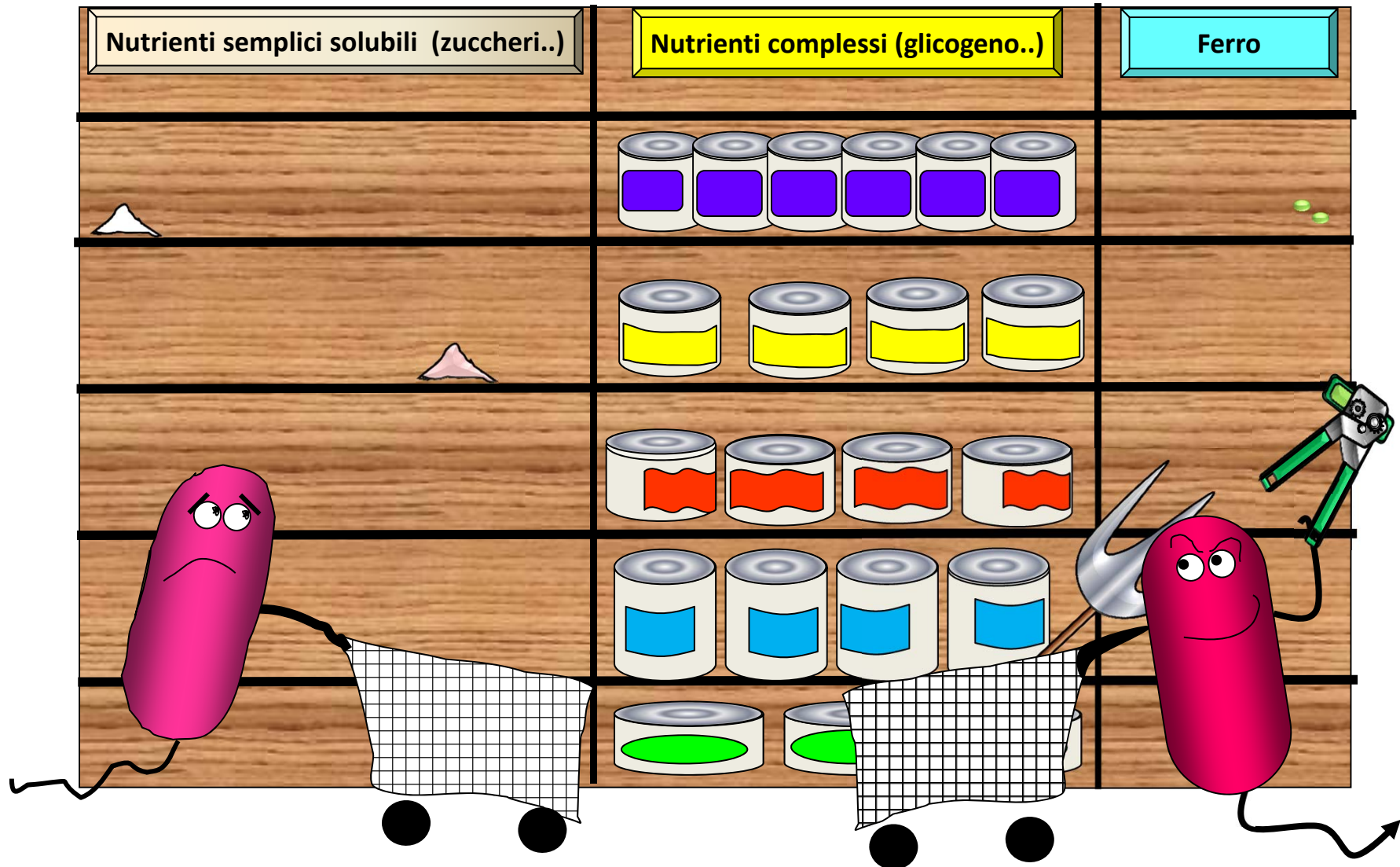


L'acquisizione di alcuni geni metabolici, se favorisce l'adattamento all'ambiente ospite, può aumentare la virulenza

Nell'organismo ospite i nutrienti solubili scarseggiano

I batteri capaci di utilizzare quelli complessi sono favoriti



Un fattore sicuramente critico per tutti i microrganismi è la disponibilità di ferro

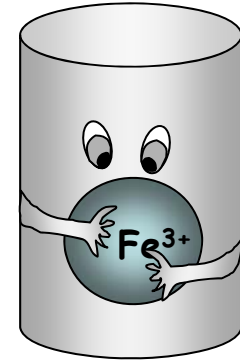
richiesta per la crescita batterica

$\sim 10^{-6}$ M

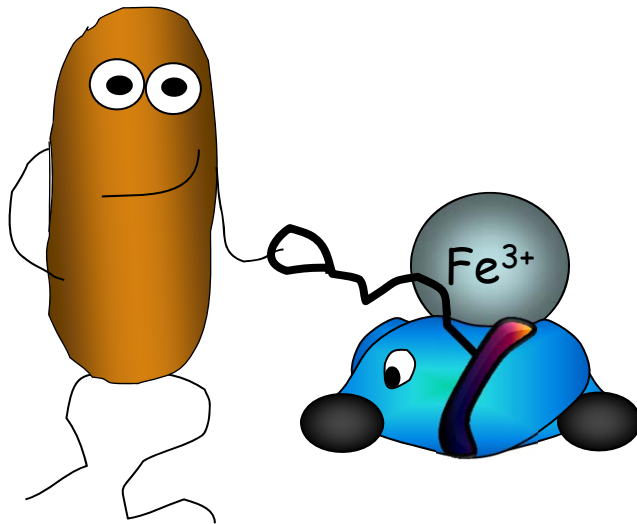
ferro libero nei mammiferi:

10^{-25} M

Il ferro è largamente presente
ma non è DISPONIBILE

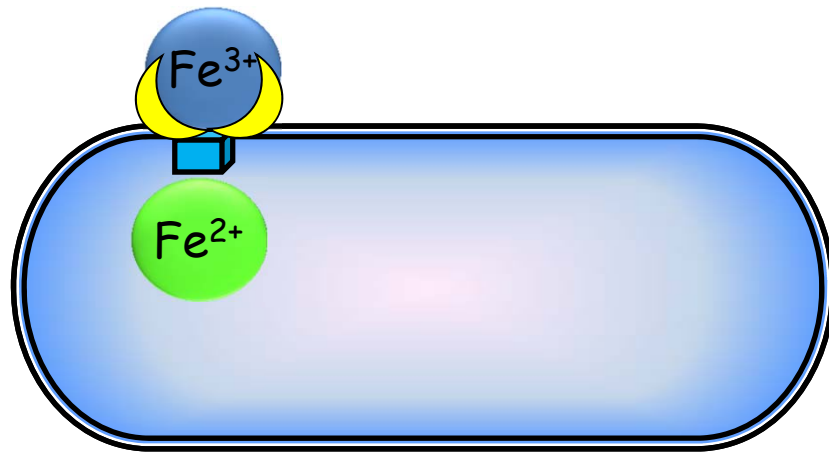


Tutti i batteri producono "molecole da riporto"
(SIDEROFORI) per procurarselo

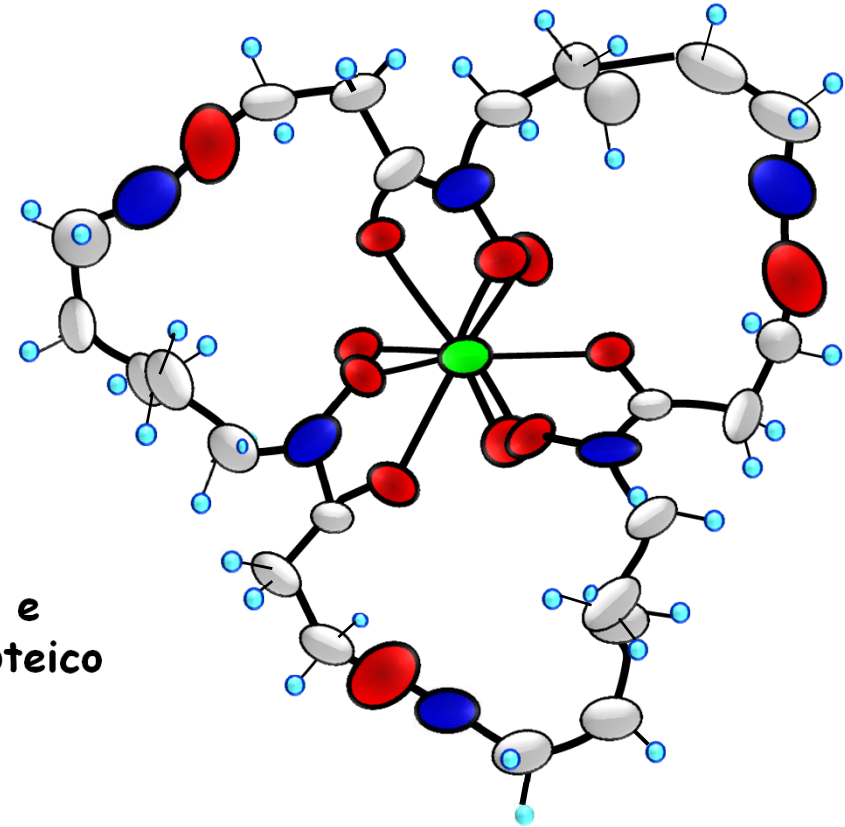


I siderofori batterici hanno affinità
maggiore delle transferrine

I siderofori sono molecole a basso peso molecolare, con un'affinità elevatissima per Fe^{3+} , rilasciate nel mezzo circostante



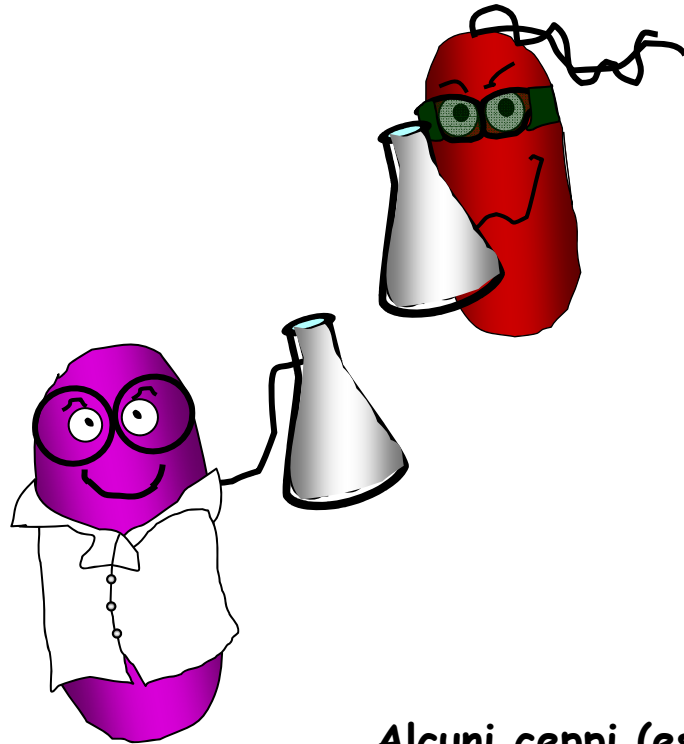
complessano Fe^{3+} , lo solubilizzano e tornano a legarsi a un recettore proteico



Cedono Fe^{3+} al recettore che lo trasporta nella cellula in forma ridotta (Fe^{2+})

Nella corsa al ferro chi ha il sideroforo
migliore parte avvantaggiato

Enterobacter aerogenes produce un sideroforo
con affinità elevatissima: l'AEROBACTINA



Ceppi di *E. coli*, *Salmonella* e *Shigella* hanno
acquisito il gene dell'aerobactina per TGO

Alcuni ceppi (es. UPEC) hanno una ridondanza di sistemi
per il sequestro del ferro (geni nelle PAI)

aerobattina

yersiniabattina

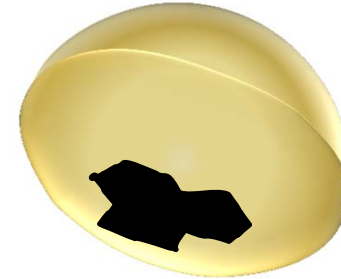
enterobattina

salmochelina

Uno dei siderofori più comuni tra gli enterobatteri è l'enterobattina



L'ospite produce lipocalina-2 che lega e sequestra l'enterobattina



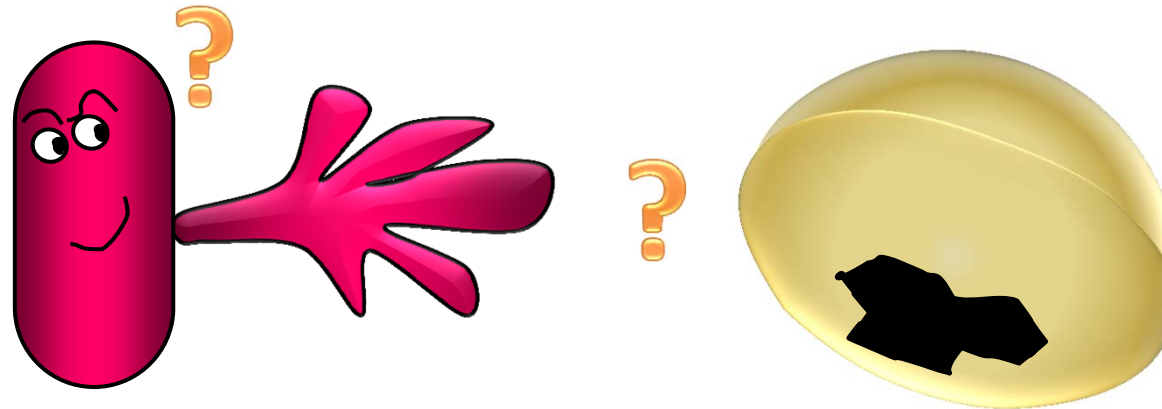
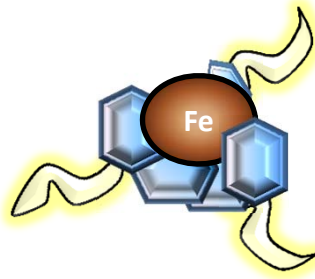
La lipocalina-2 è secreta anche dai PMN



La soluzione può essere la..

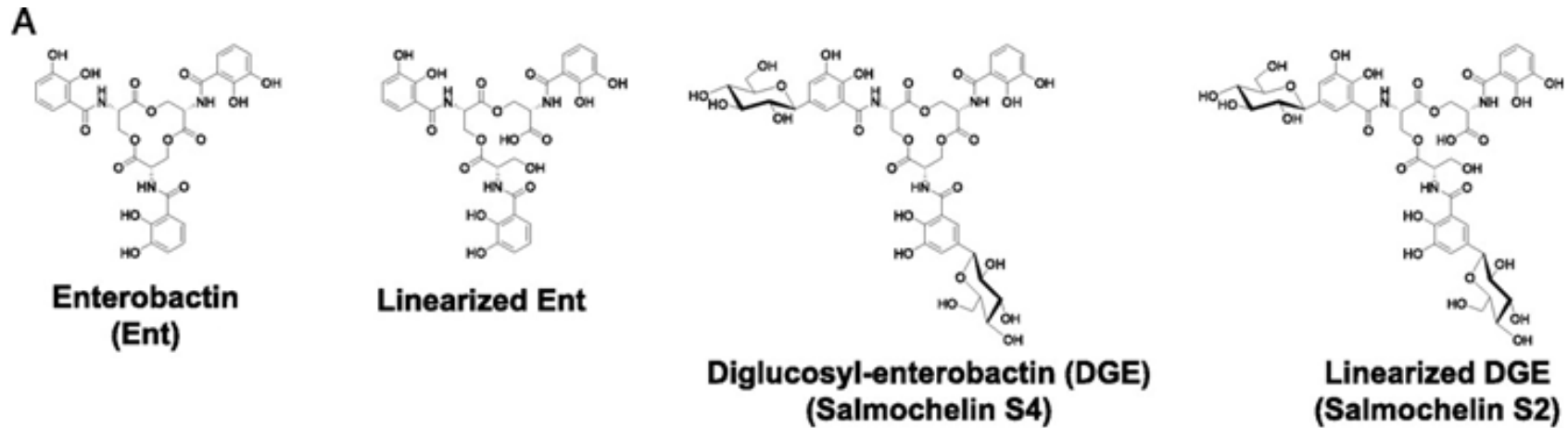
Salmochelina = (enterobattina glicosilata)

La salmochelina non è sequestrata dalla lipocalina-2 ma la glicosilazione ne ostacola il riconoscimento anche da parte dei recettori per l'enterobattina

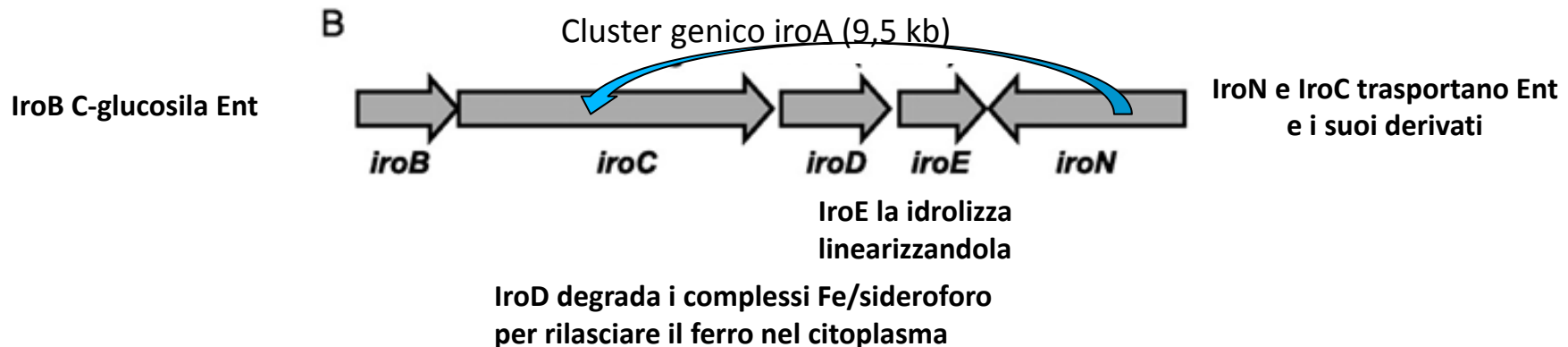


Nella stessa PAI che codifica la salmochelina, è però presente il gene per un recettore alternativo

Schematic of the *iroA* gene cluster and strategy for its incorporation into *E. coli* H9049.



Il cluster *iroA* codifica 5 proteine coinvolte nella modificazione e nel trasporto di Ent:

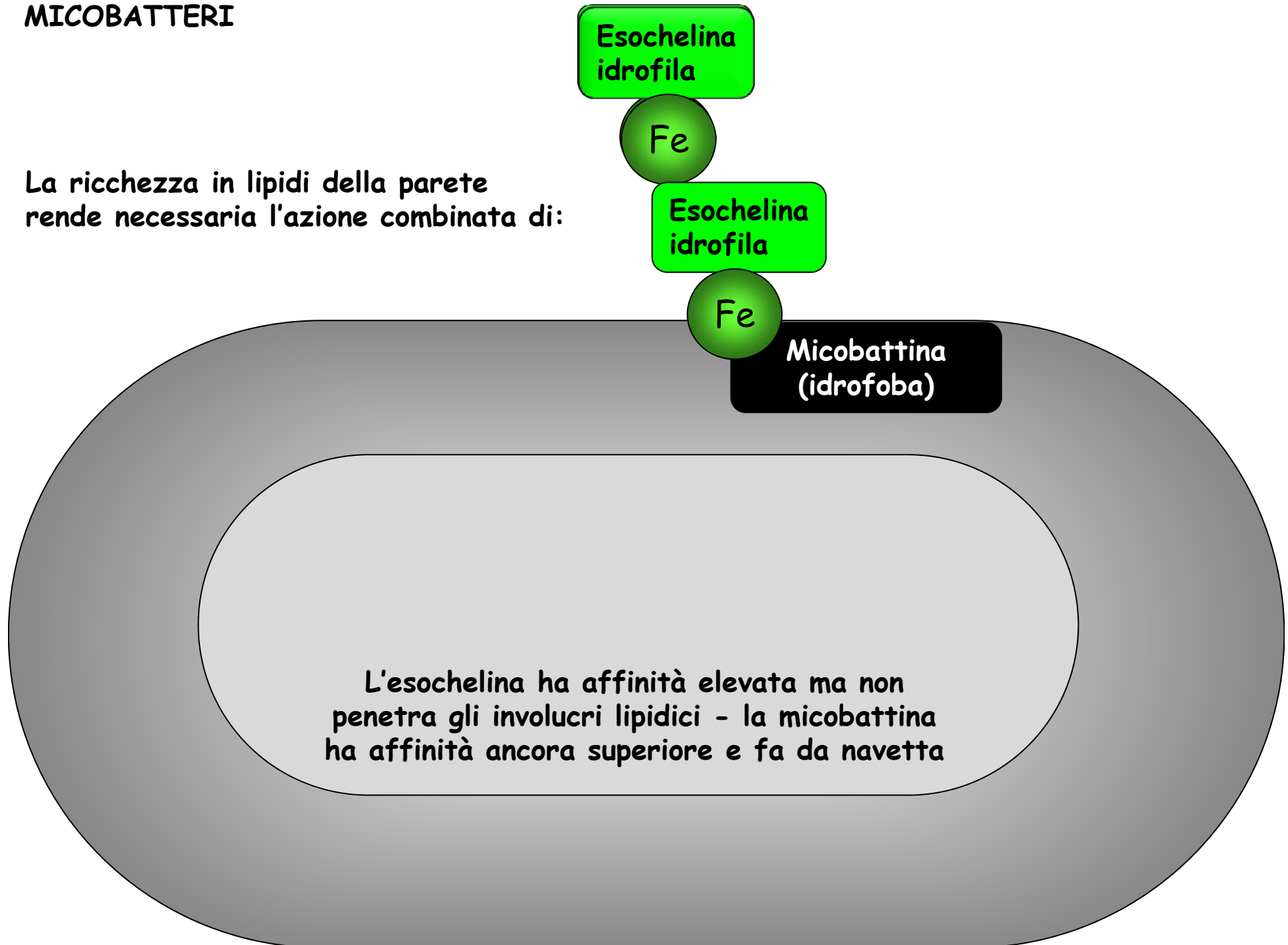


I batteri che possiedono il cluster secernono una miscela di salmochelina S4 e S2 (versione macrociclica e linearizzata della Ent diglucosilata)

La glucosilazione e la linearizzazione di Ent abbassa la propensione a ripartirsi nei doppi strati lipidici: un vantaggio per reperire il ferro in un ambiente ricco di membrane.

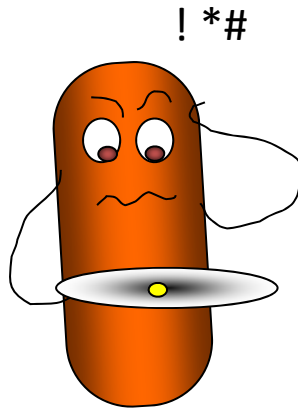
MICOBATTERI

La ricchezza in lipidi della parete
rende necessaria l'azione combinata di:



Una capacità particolare è quella evoluta dai ceppi UPEC

L'urina non è un terreno colturale
del tutto idoneo per i batteri



acidità

concentrazione di urea
osmolarità alta e
variabile

Scarsità di carboidrati

bassa concentrazione
di nutrienti +
scelta limitata

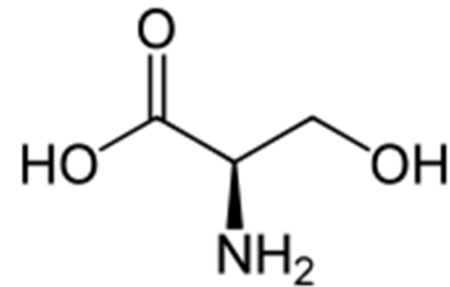
AMINOACIDI

PICCOLI PEPTIDI

I ceppi UPEC sono in grado di utilizzare la
D-serina, tossica per i ceppi commensali

Deaminandola grazie a una D-serina
deaminasi (DsdA) → piruvato

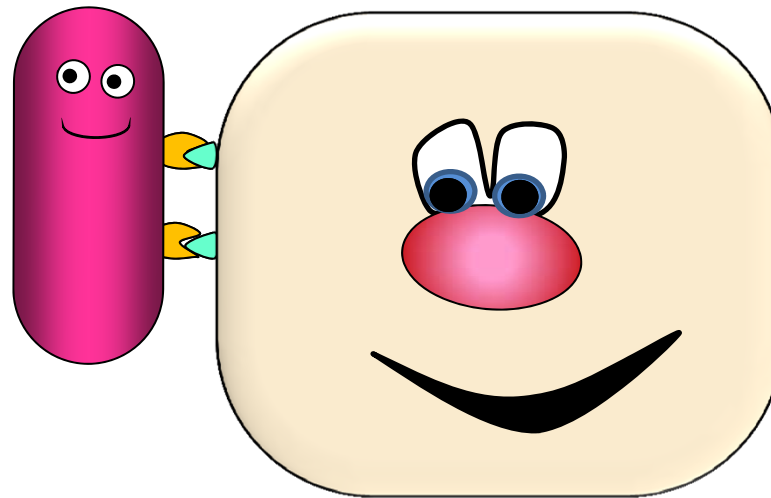
L'inattivazione di DsdA abbassa la
virulenza del ceppo



FATTORI DI ADESIONE - FIMBRIALI

per avere successo nella colonizzazione e mantenerla, è necessario disporre di adesine

Le adesine riconoscono in modo specifico dei recettori sulle cellule dell'ospite

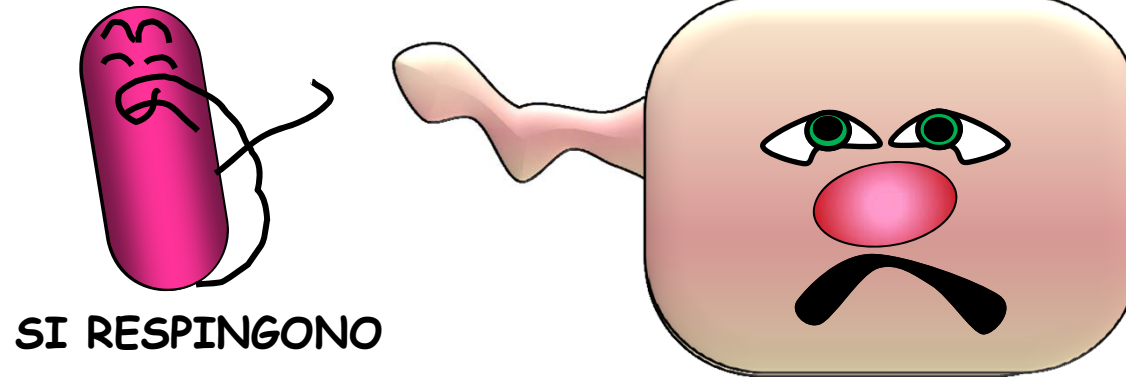


Un'interazione diretta tuttavia è

- DIFFICILE
- "RISCHIOSA"

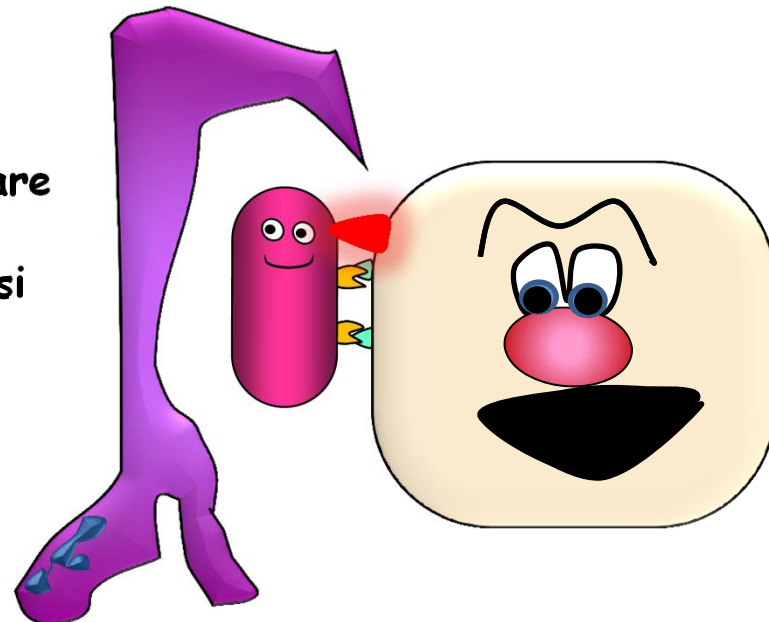
DIFFICILE PERCHE'

La cellula batterica e la cellula ospite sono
entrambe cariche negativamente

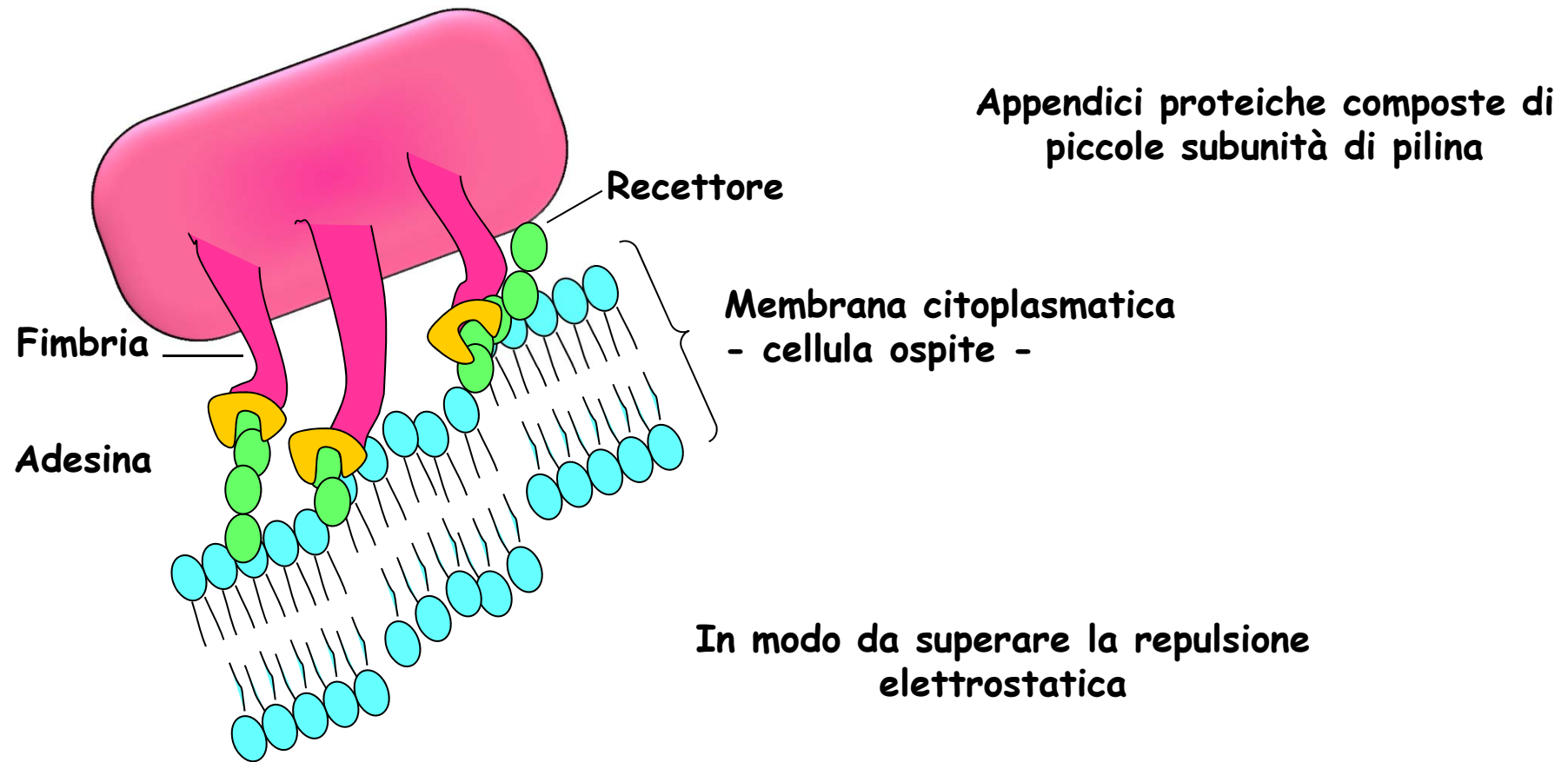


"RISCHIOSA" PERCHE'

L'interazione troppo stretta potrebbe innescare
l'infiltrazione e l'attivazione delle cellule
dell'immunità innata e scatenare la fagocitosi



Nella maggior parte dei casi, quindi, l'adesina si trova all'estremità di una lunga struttura fibrillare che si estende dalla cellula batterica (fimbria/pilo)

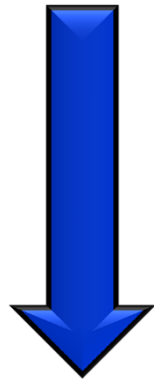


Ed evitare un contatto eccessivo tra altri recettori batterici e recettori dell'ospite deputati all'attivazione del S.I.

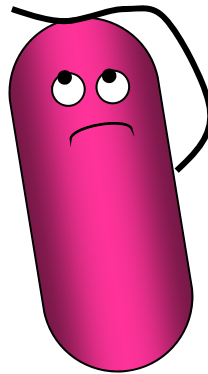
Le fimbrie protrudono
dalla cellula

impaccate con struttura elicoidale
intorno a un asse virtuale

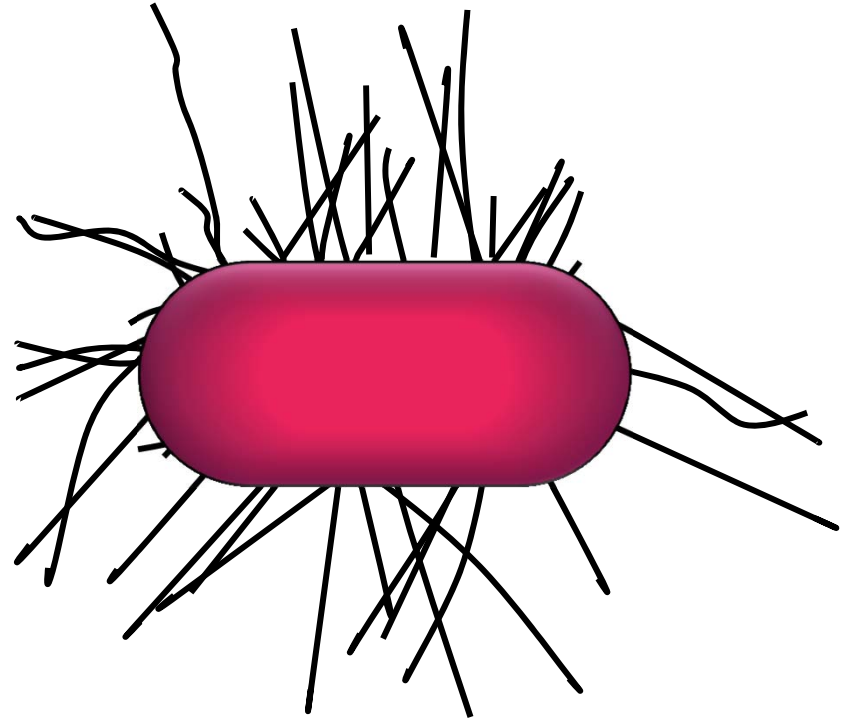
batteri privi di fimbrie non
possono colonizzare



non sono in grado di
infettare



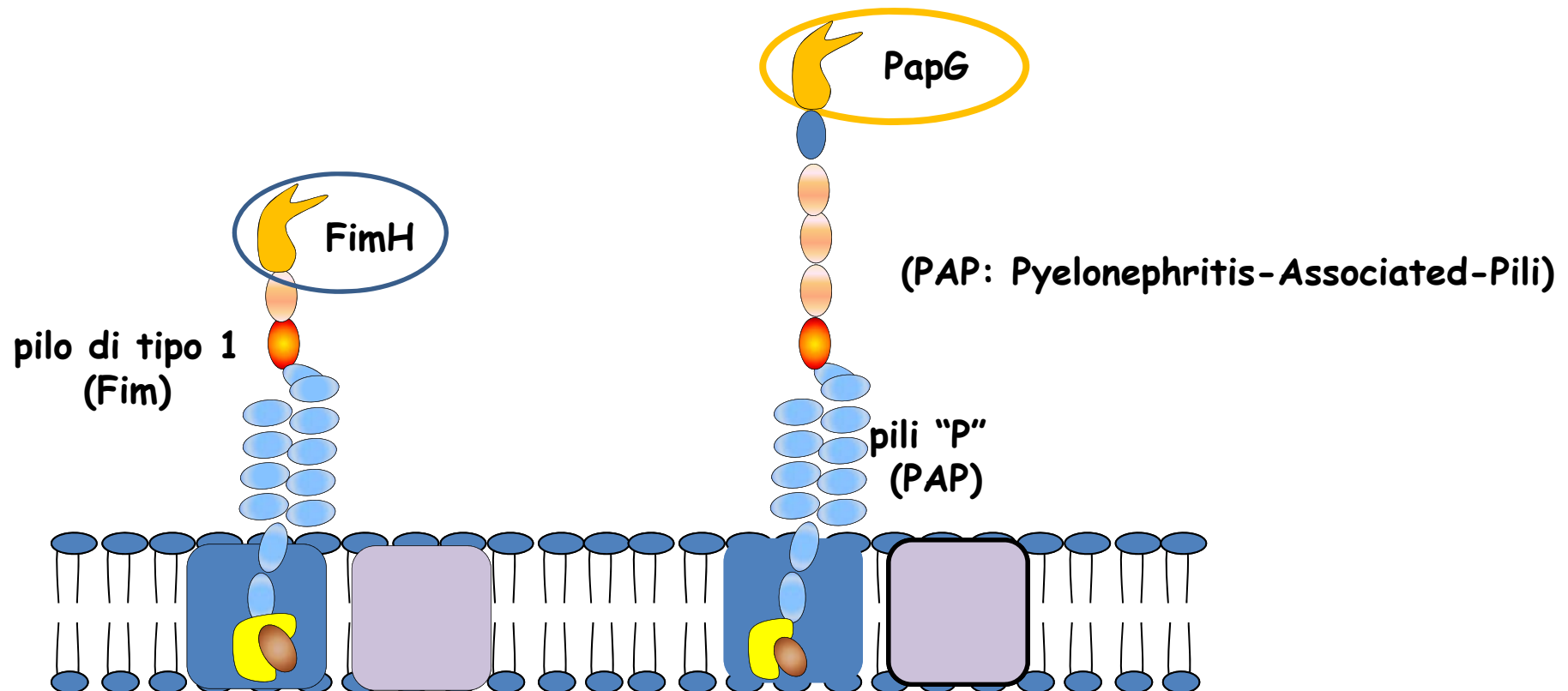
100-300 → 1000 /cellula



La varietà di struttura e di biogenesi delle fimbrie/pili è vasta ma il modello sostanziale è il medesimo

Le più comuni sono le fimbrie di tipo I

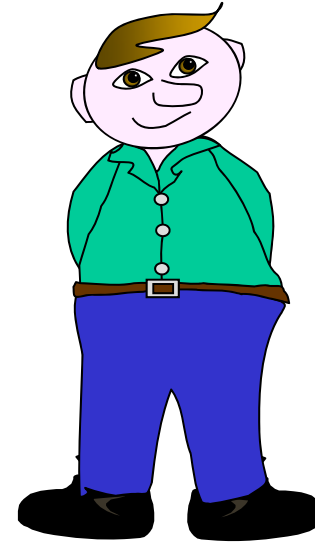
Le adesine Pap sono frequenti nei ceppi nefritogeni



Il tipo di adesina sulla punta della fimbria
determina il tropismo del patogeno

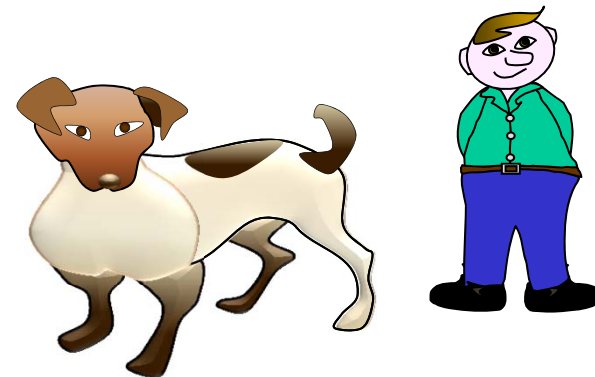
E. coli CFT073 (pielonefritogeno umano)
esprime PapGII

specifico per GbO4, un glicolipide molto
abbondante nel rene umano



ceppi isolati da CISTITI hanno PapGIII che
è specifico per GbO5 (rene canino)

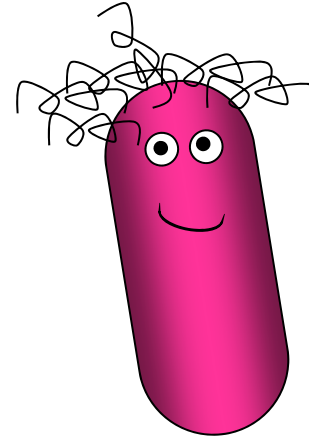
ma trova in uomo recettori
alternativi meno specifici



ADESINE BATTERICHE

Microrganismo	Adesina	Recettore
<i>Staphylococcus species</i>	Acido Lipotecoico (LTA)	Fibronectina
Streptococco gruppo A	LTA-Proteina M	Non noto
Streptococco gruppo B	Proteine	N-acetylglucosamina
<i>Escherichia coli</i>	Fimbrie	D-mannosio, glicolipideP
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Fimbrie	Ganglioside
<i>Treponema pallidum</i>	P1,P2,P3	Fibronectina
<i>Chlamydia spp.</i>	Lectine superficiali	N-acetylglucosamina
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Proteina P1	Acido sialico

CURLI



Fimbrie sottili, aggregate e
arricciate, osservate in virotipi
di *E. coli* e in salmonelle

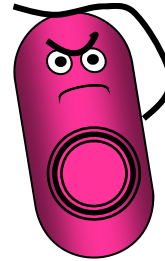
Strutturalmente e biochimicamente
identiche alle fibre amiloidi eucariotiche,
sono codificate dai geni *csg*

aderiscono a superfici
biologiche e artificiali

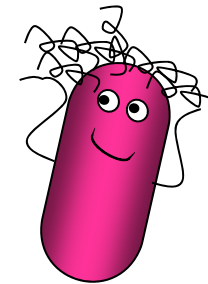
La curlina si libera nell'ospite e ha una
moderata attività tossica



L'assenza di curli in *Shigella* è probabilmente un altro esempio di perdita pato-adattativa



In tutti i biovar di *Shigella* i geni *csg*, che li codificano, sono interrotti da inserzioni o delezioni



Il 60% dei ceppi commensali di *E. coli* produce i curli

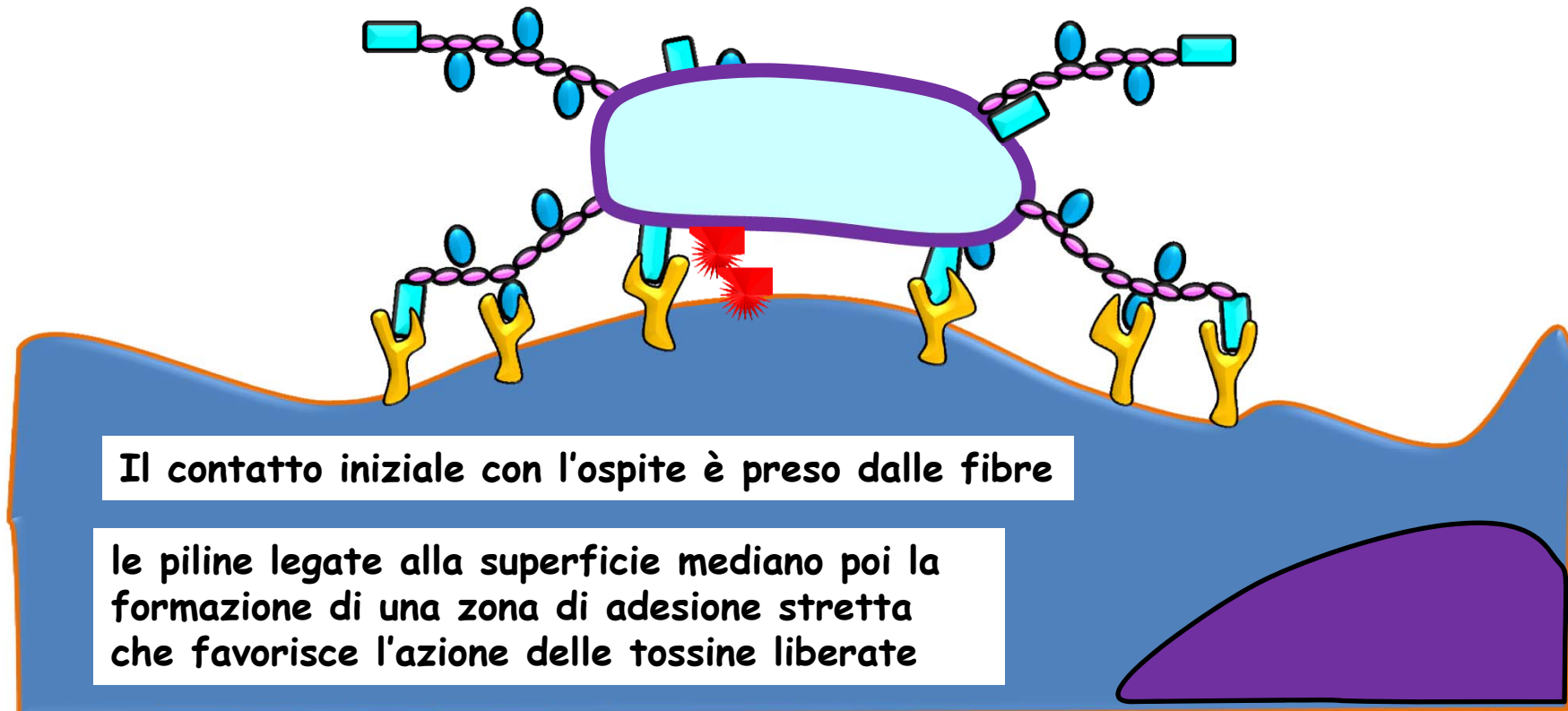
Lo stesso fenomeno si osserva negli EIEC

Nei monodermi i pili sono composti da tre elementi:
(modello *Corynebacterium diphtheriae*)

SPA-A
(Componente principale)

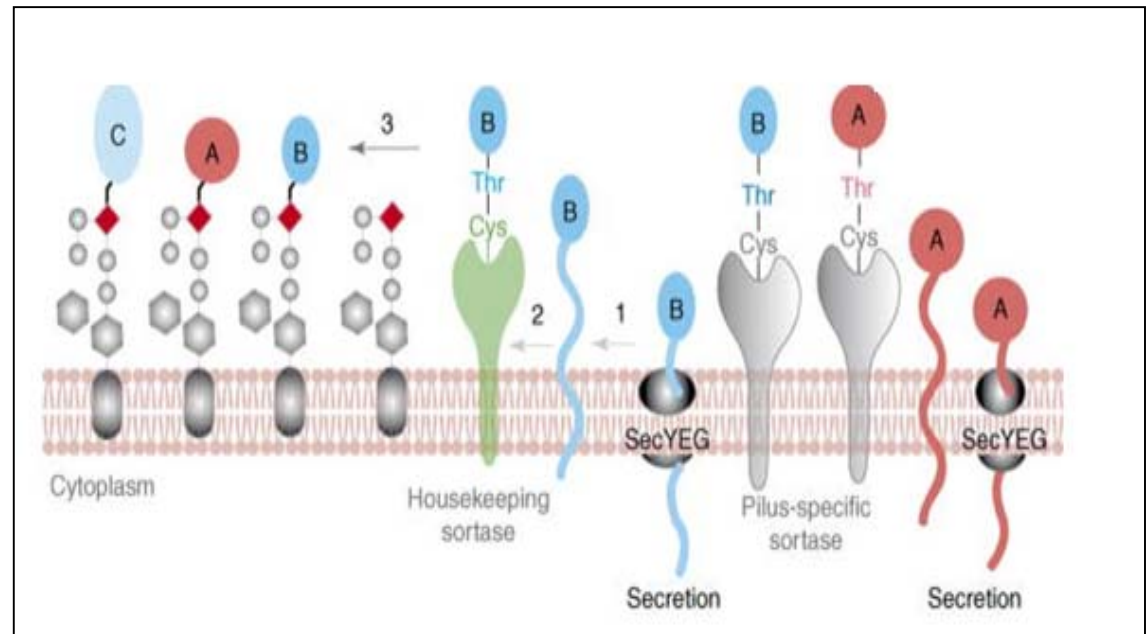
SPA-B
Intercalato a
intervalli regolari

SPA-C
All'estremità del pilo

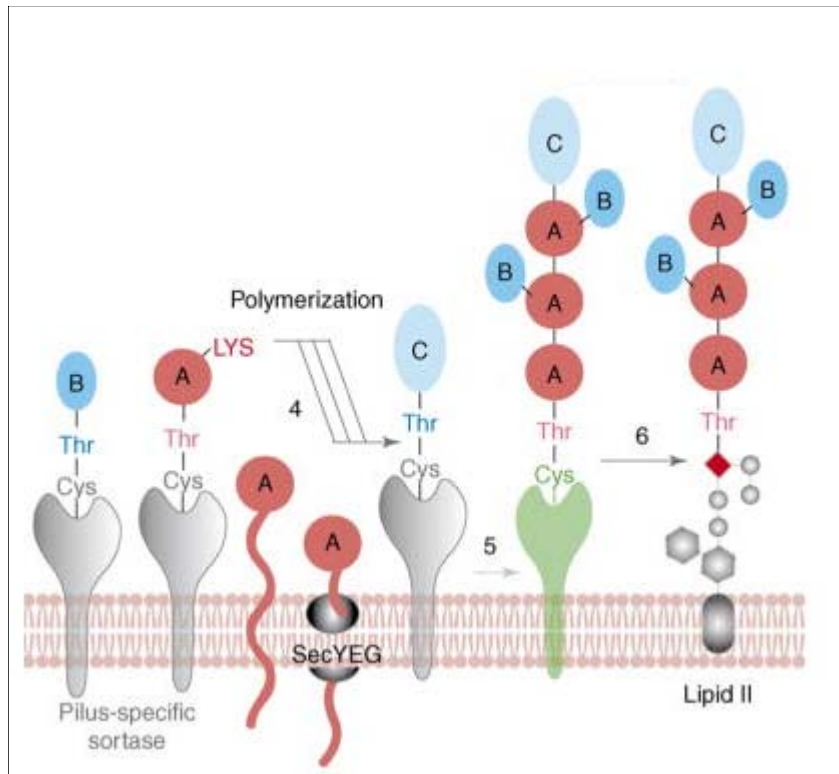


I precursori delle componenti (SpaA,B,C) sono sintetizzati nel citoplasma e traslocati attraverso la membrana da SecYEG

formano acil-enzimi intermedi con la sortasi housekeeping o con quella specifica per la pilina



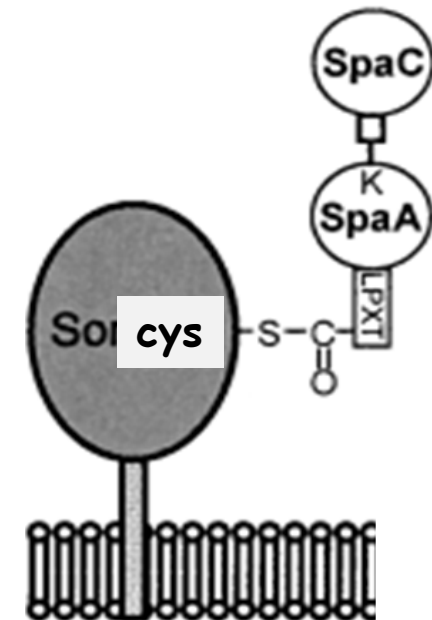
Gli intermedi ancorano le piline alla parete cellulare trasferendole al precursore del lipide II



Peptidasi
segnale



sortasi



la sortasi taglia il motivo LPxTG di un monomero di pilina e forma un acil-intermedio (Thr/Cys)

l'attacco nucleofilico di un amino gruppo specifico (catena laterale della K 190) fornito da un secondo monomero risolve l'acil-intermedio

La polimerizzazione termina quando i polimeri sono trasferiti al lipide II; le ipotesi sono:
1) attraverso un passaggio sortase housekeeping-SpaA → sortasi specifica → lipide II
2) sortasi specifica → trasferimento diretto al lipide II.

ADESINE NON FIMBRIALI

Proteine mono o oligomeriche, localizzate sulla superficie batterica

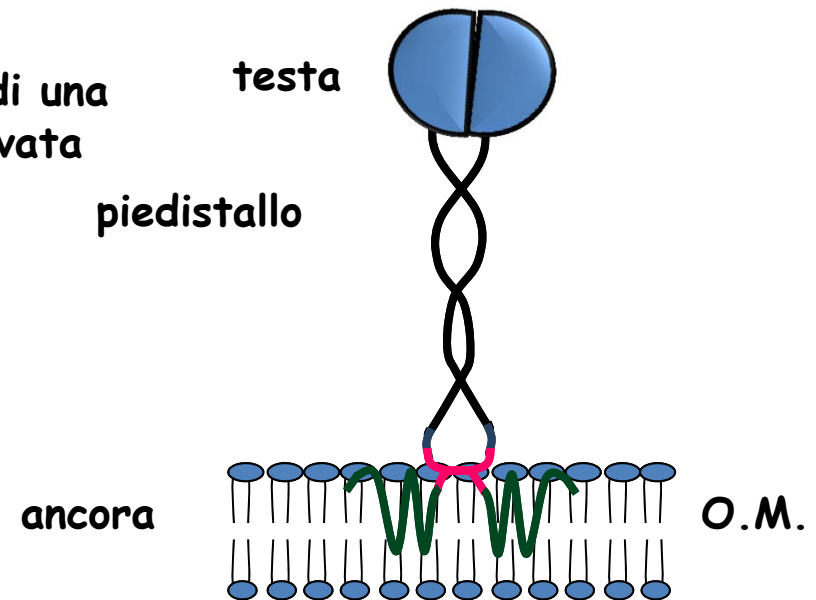
Es.invasine di *Yersinia*,
AFA di *E. coli* UPEC o diarreigeni (DAEC, EAEC)

Un modello ben studiato è l'adesina YadA di *Yersinia*

Che ha una struttura trimerica con
un'architettura di tipo

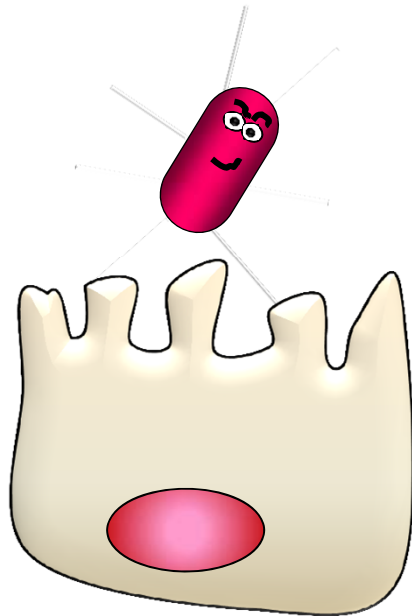
La regione dell'ancora ha le caratteristiche di una
proteina autotrasportata ed è molto conservata

Il piedistallo è sottile e collassa sulla
superficie batterica, dando l'impressione
di un "foglio" (afimbrial sheath)



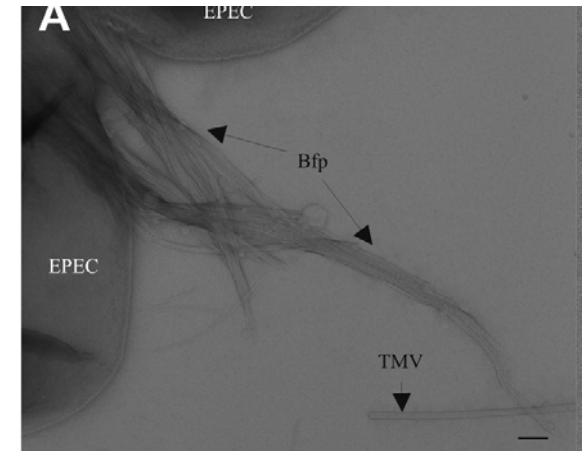
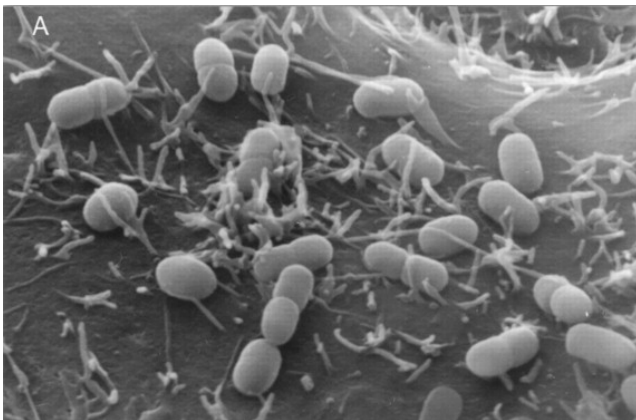
Uno dei sistemi di adesione non fimbriale
è quello del "piedistallo"

L'esempio più noto è quello dei virotipi EPEC/EHEC di *E. coli*

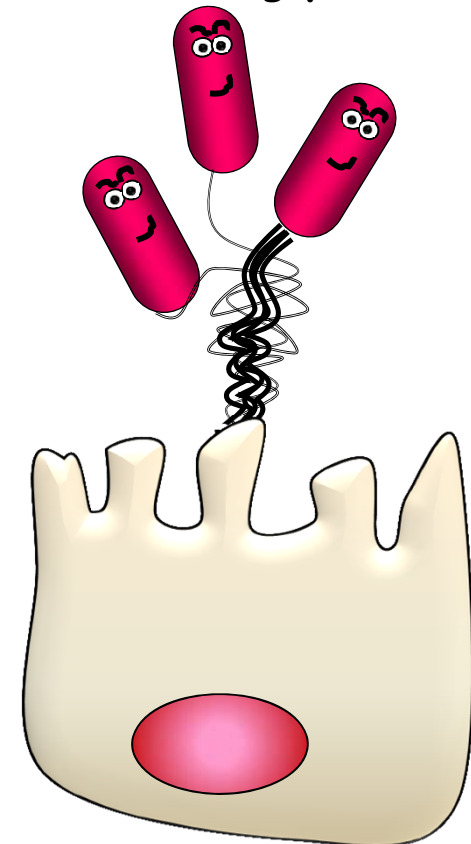


Il primo avvicinamento avviene
tramite le

Fimbrie filamentose
(EsPA)

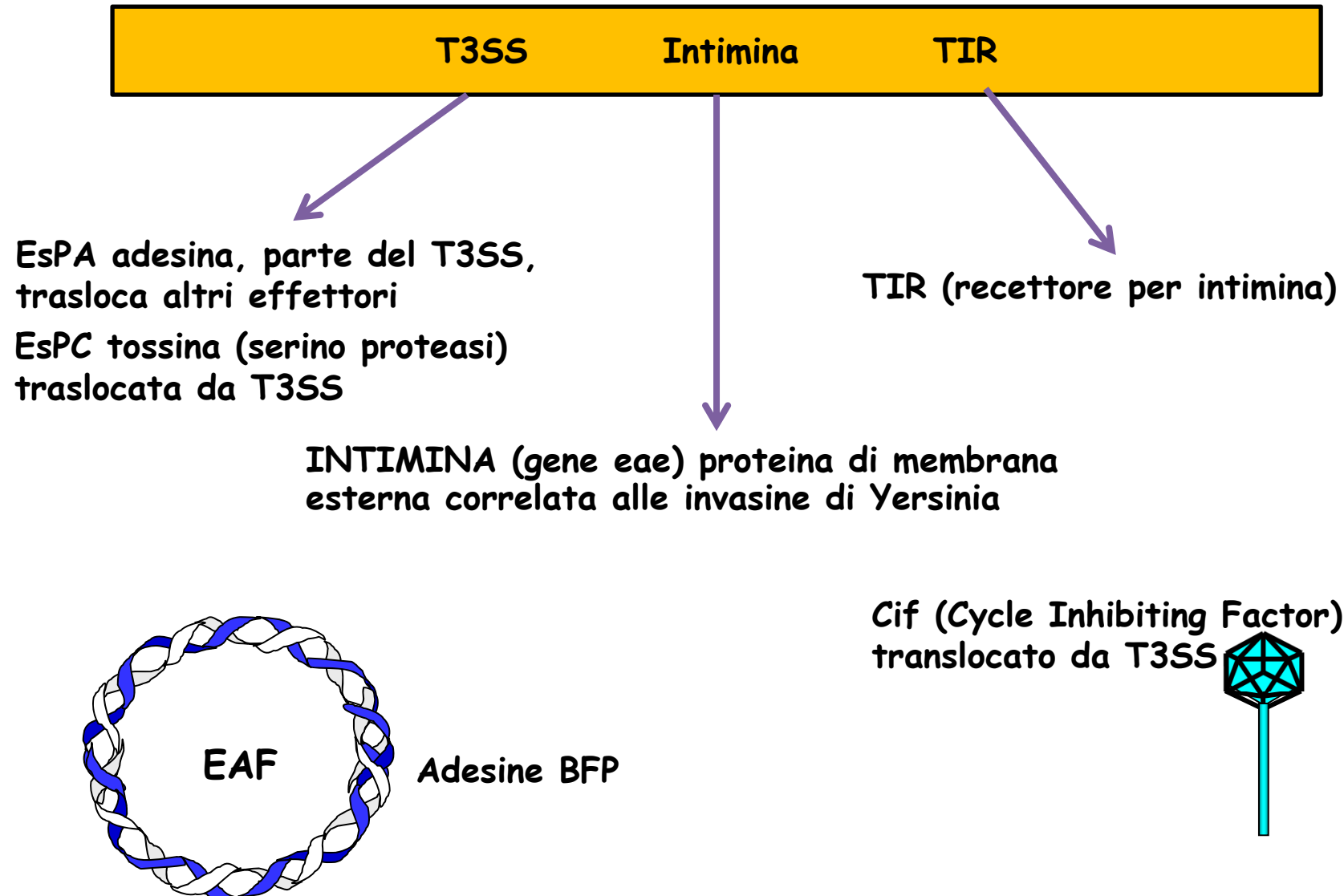


Fimbrie che formano fasci
(bundle forming pilus-BfpA)



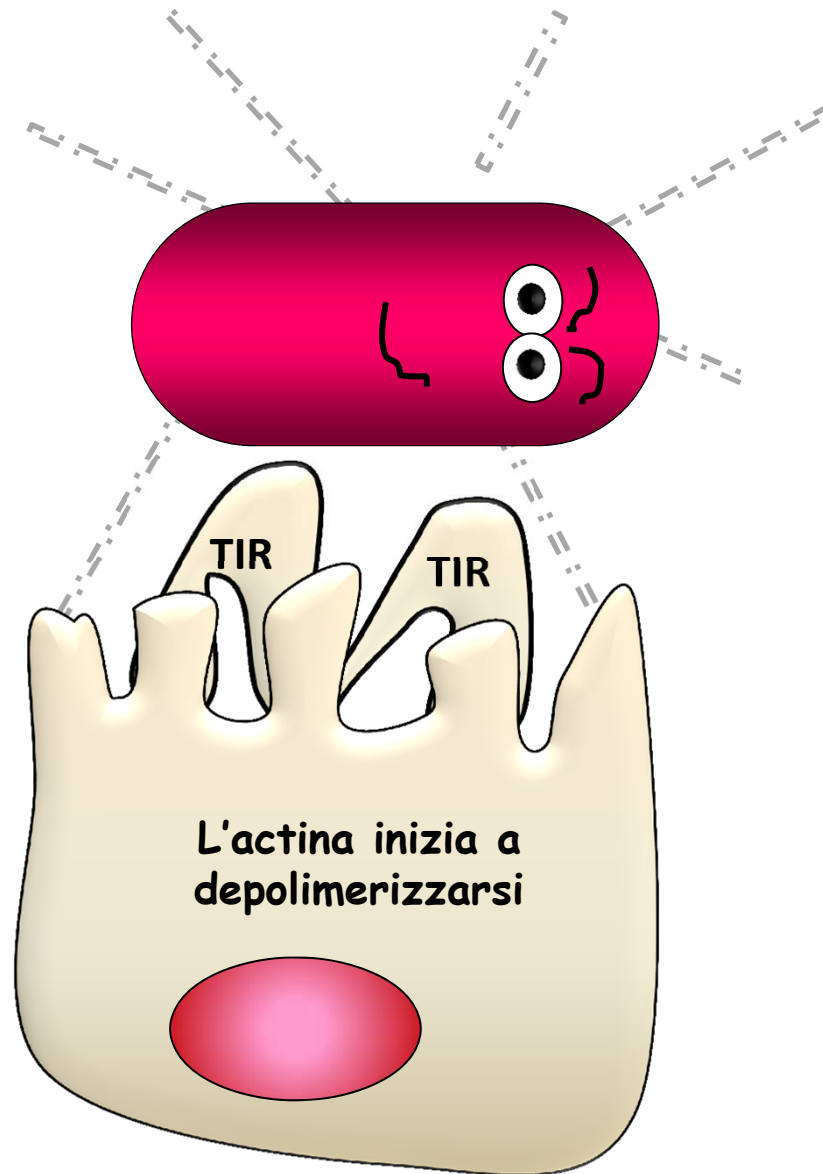
La moltiplicazione dei batteri sulla superficie induce l'espressione del locus genico LEE (Locus Enterocyte Effacement), regolato dal Quorum sensing

PAI: Locus Enterocyte Effacement-LEE

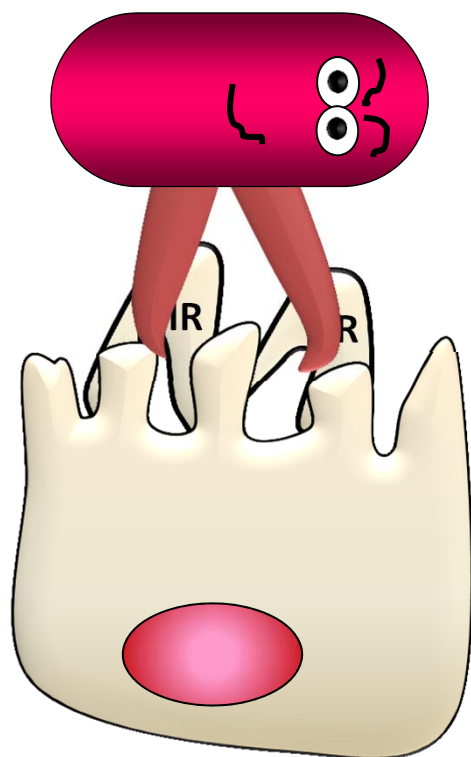
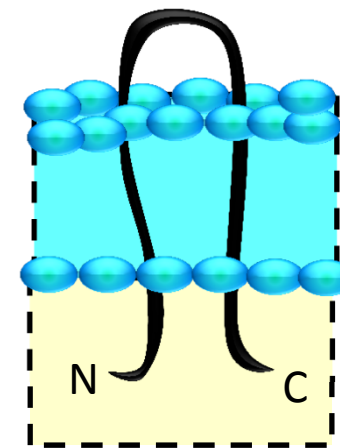


**Il sistema di secrezione III
trasloca il recettore Tir nella cellula ospite**

Le EsPA vengono perse



"Tir" ha una struttura a forcina con due domini transmembrana e un loop per l'attacco dell'intimina



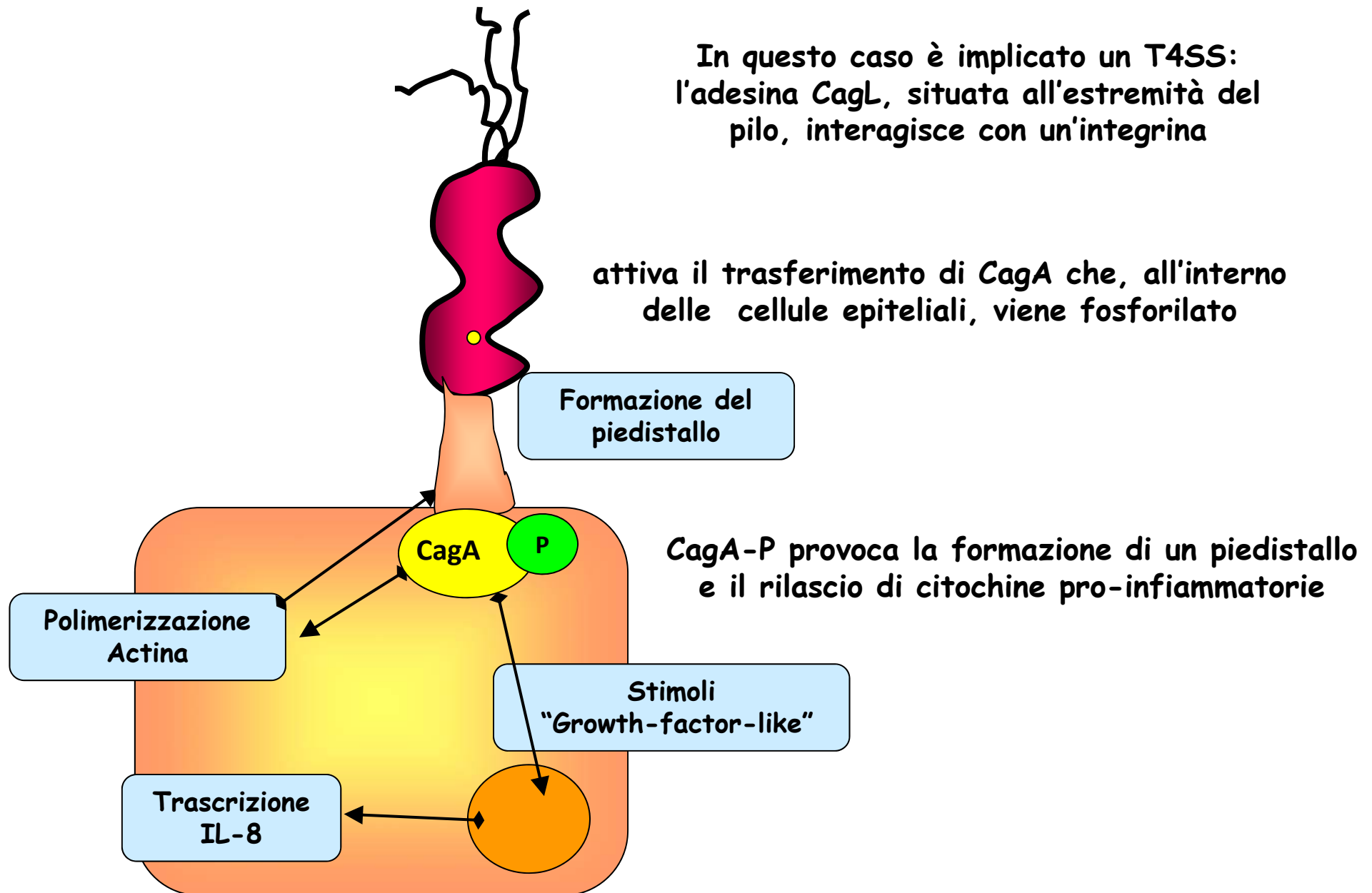
L'intimina si lega al recettore Tir



il contatto induce la formazione del piedistallo

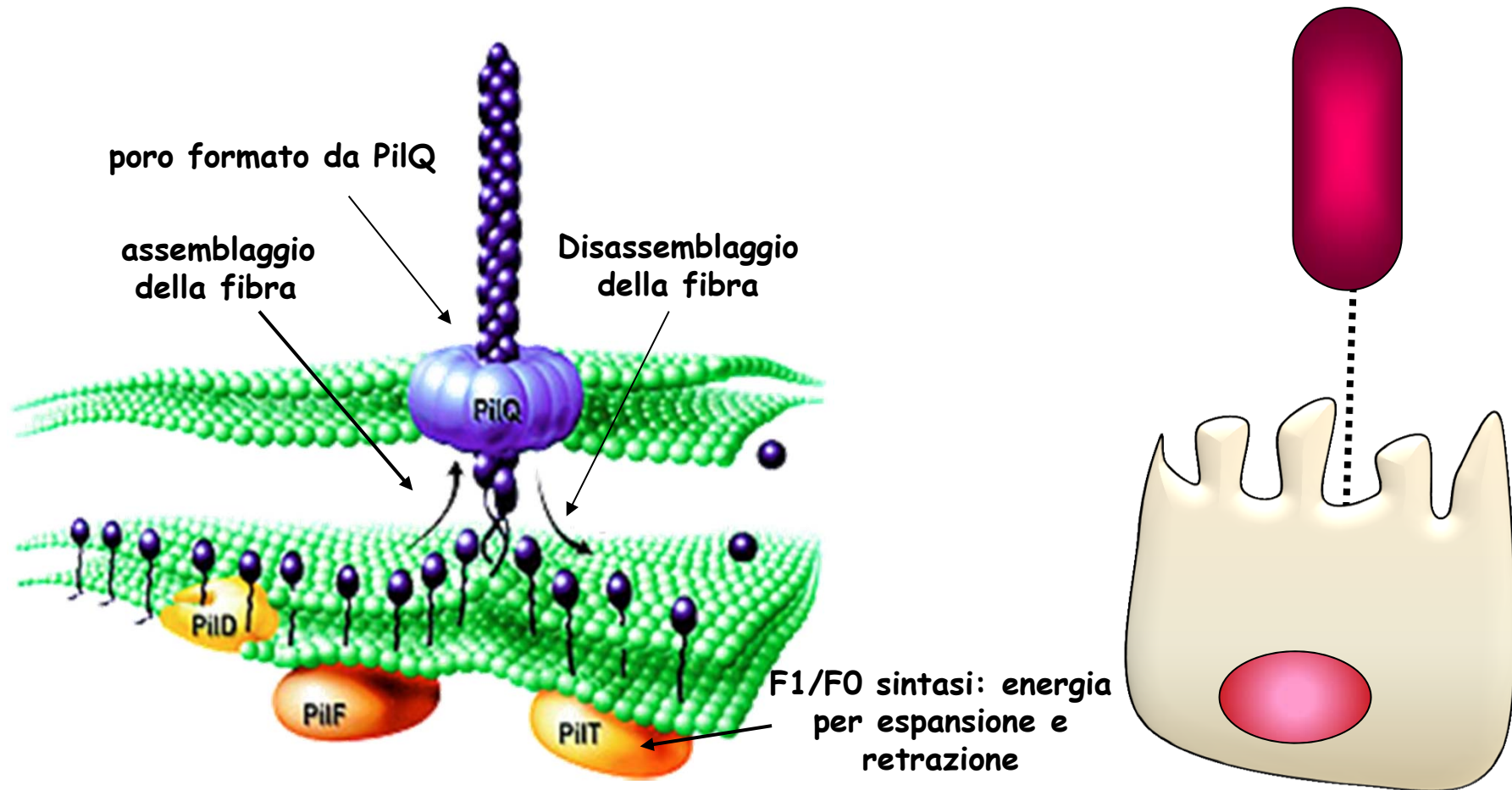


Un altro microrganismo che provoca la formazione di piedistallo è *Helicobacter pylori*



PILI DI TIPO IV Secreti attraverso un poro (PilQ)

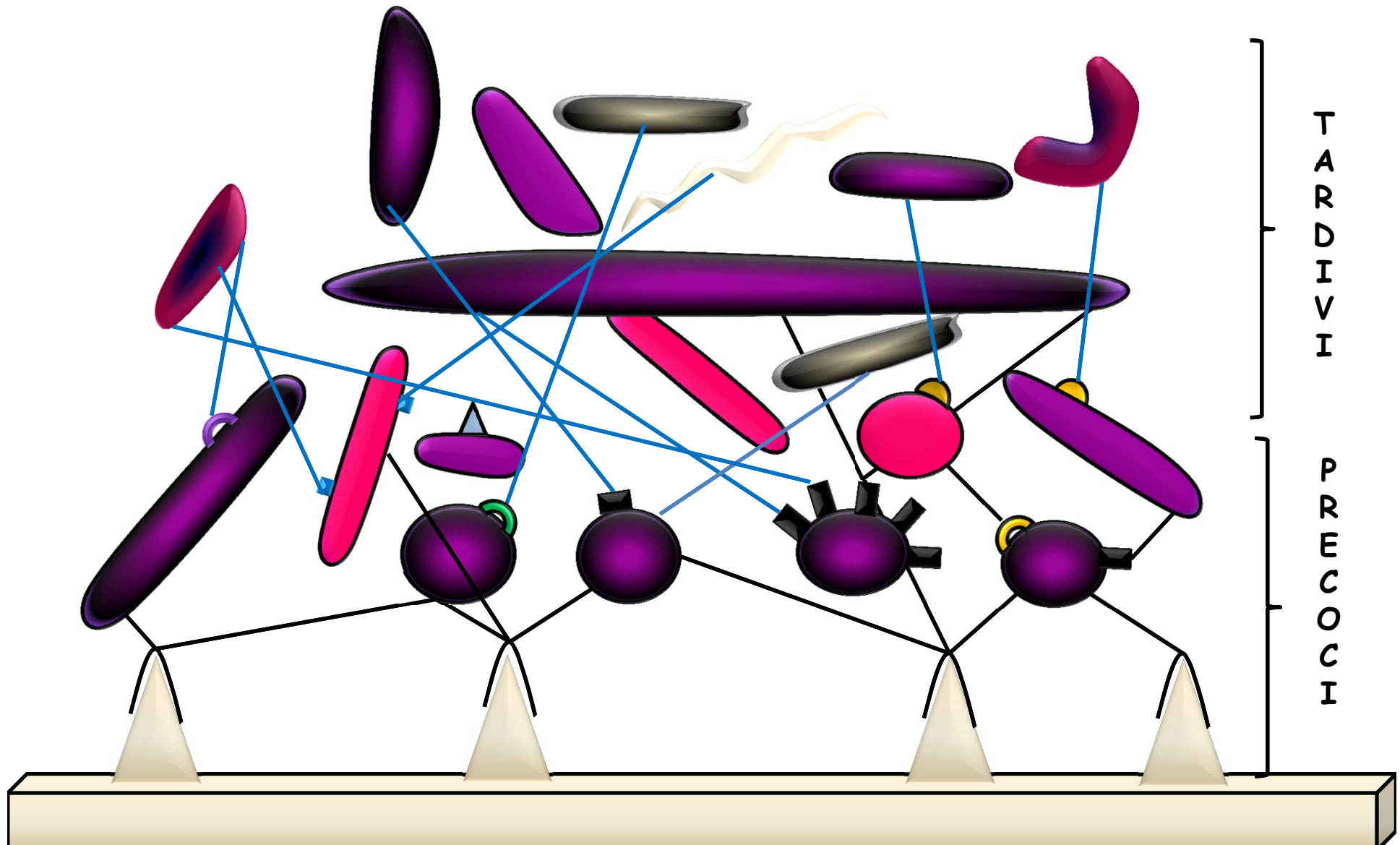
Il pilo si aggancia alla superficie e si "contrae" trascinando la cellula



Si possono aggregare a formare fasci

Alcuni pili sono coinvolti anche nell'aggregazione tra batteri, la formazione di biofilm, l'assunzione di DNA, la mobilità scivolante e l'attacco di batteriofagi

Le adesine sono importanti anche per la costituzione dei biofilm



Vivere in biofilm significa essere più protetti dal sistema immunitario e dagli antibiotici, scambiarsi nutrienti

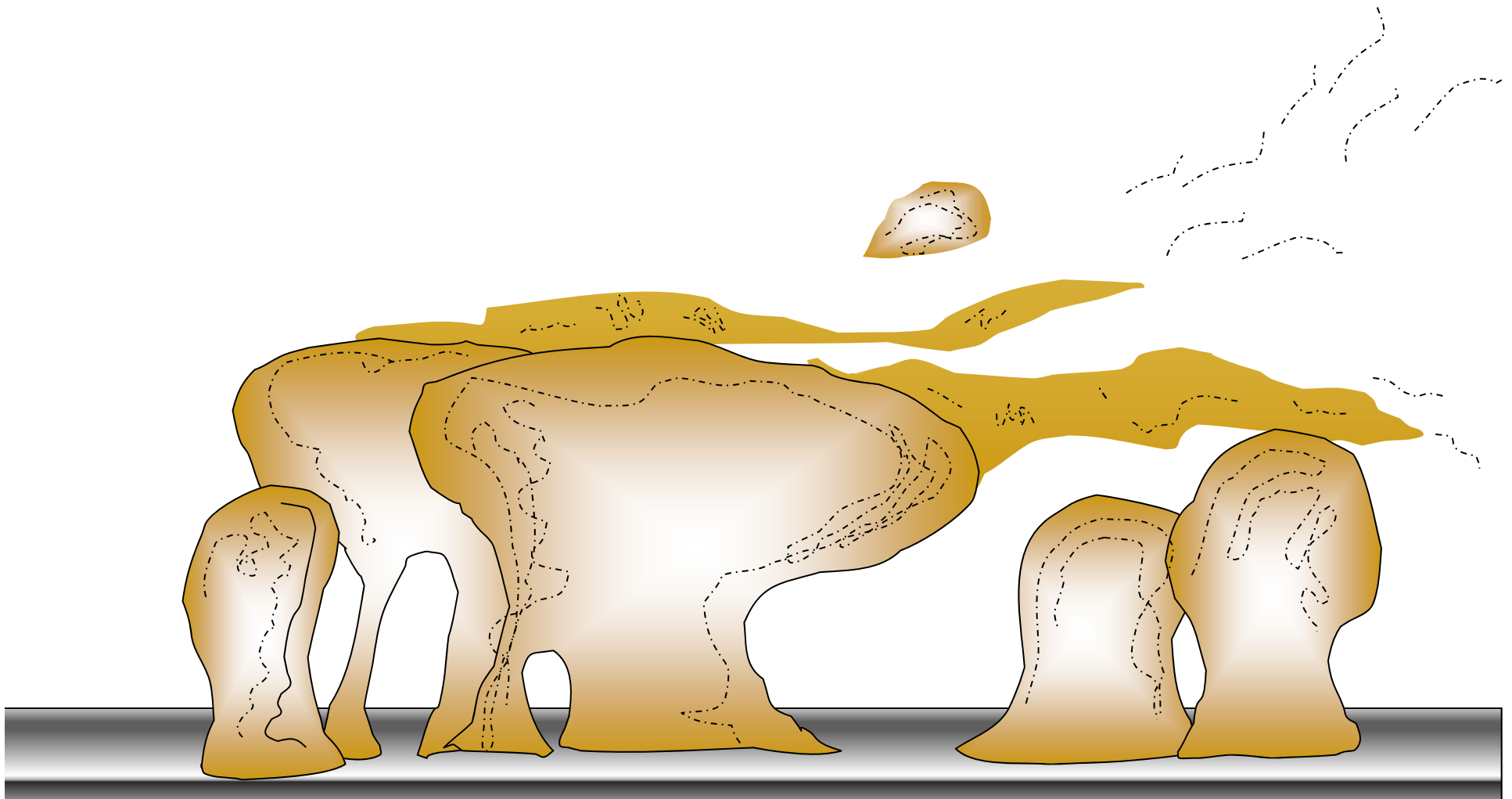


Biofilm sulla superficie di un catetere

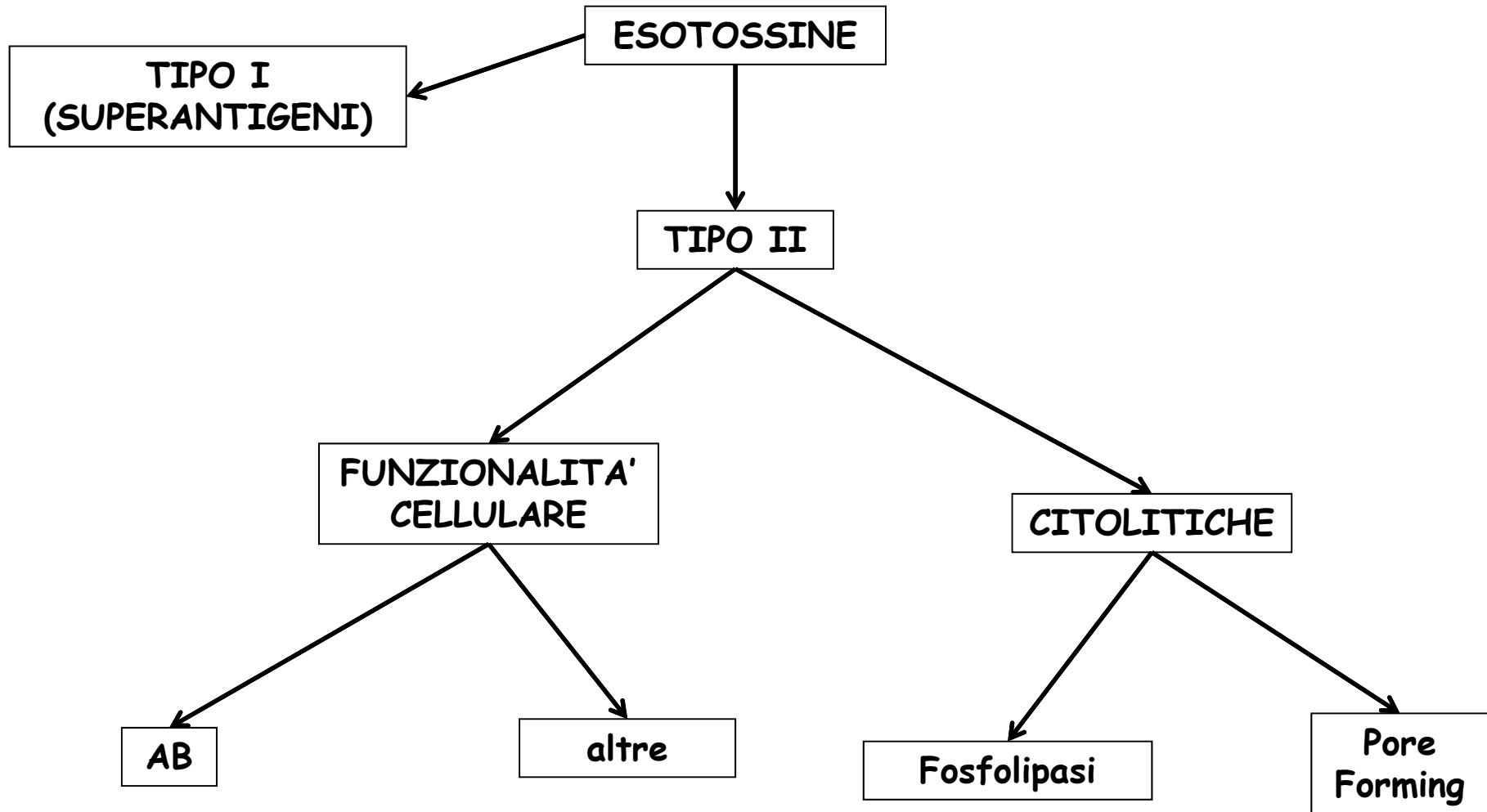
Evitare di essere allontanati dal flusso dei liquidi che umettano le mucose

Costruire un serbatoio da cui diffondere l'infezione

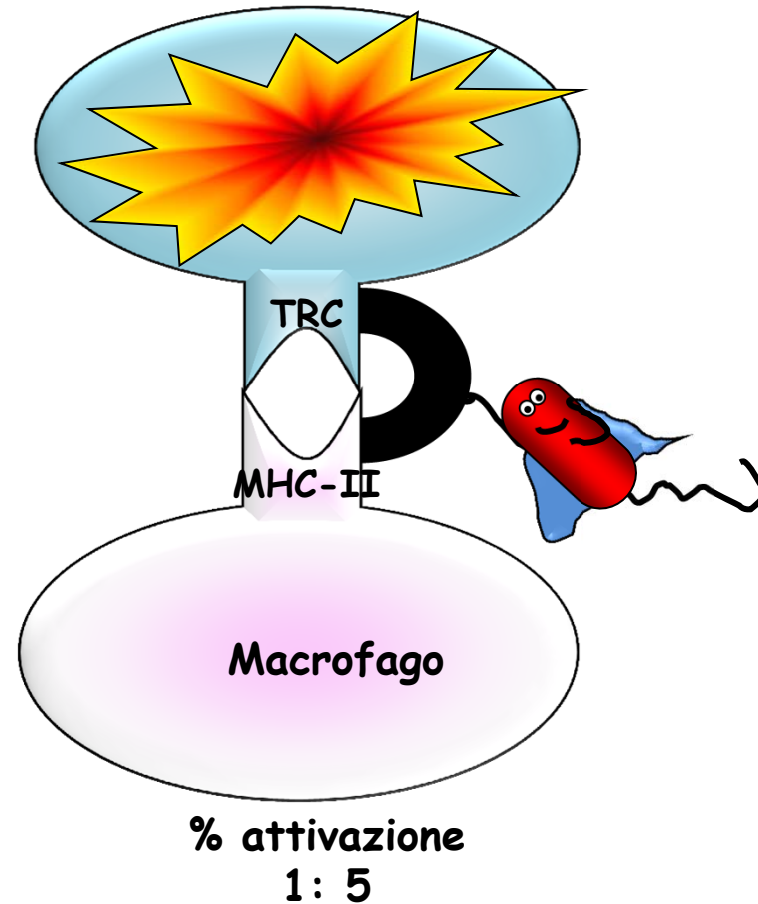
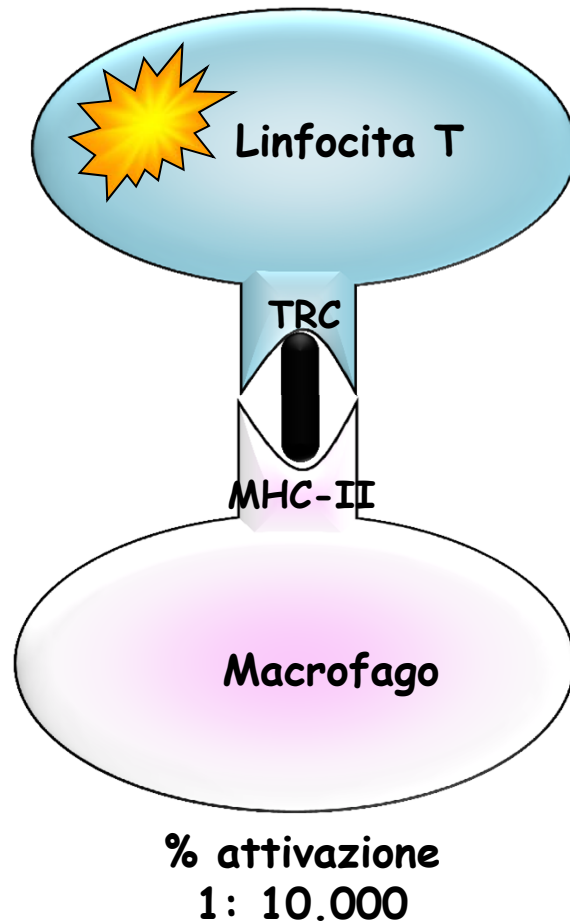
Lungo il biofilm maturo si formano dei "nastri" da cui le cellule superficiali lasciano il biofilm insieme a parte del materiale della matrice



PROVOCARE DANNO



**I superantigeni attivano i linfociti T
in modo aspecifico**

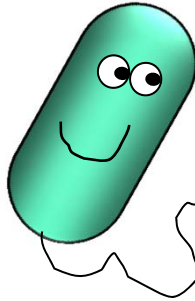


tossine superantigene sono prodotte da stafilococchi,
streptococchi, micoplasmi (monodermi) e *Yersinia*
pseudotuberculosis (diderma)

TOSSINE CHE DANNEGGIANO I TESSUTI (CITOLITICHE)

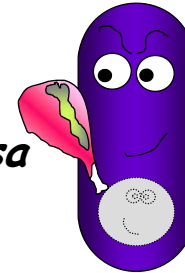
le "fosfolipasi C"

Idrolizzano la fosforilcolina
delle membrane cellulari



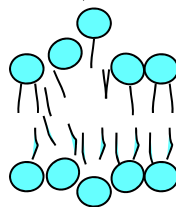
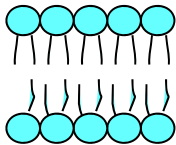
Pseudomonas aeruginosa

Fosfolipasi C

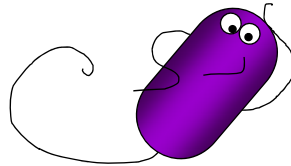


C. perfringens

Tossina a

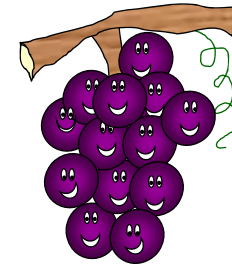


Lisi



L. monocytogenes

Fosfolipasi C



S. aureus

α -tossina

Lecitinasi distrugge le
membrane citoplasmatiche

IL DANNO PUO' RIGUARDARE ANCHE IL TESSUTO

Alcuni enzimi contribuiscono significativamente alla diffusione dei microrganismi nei tessuti

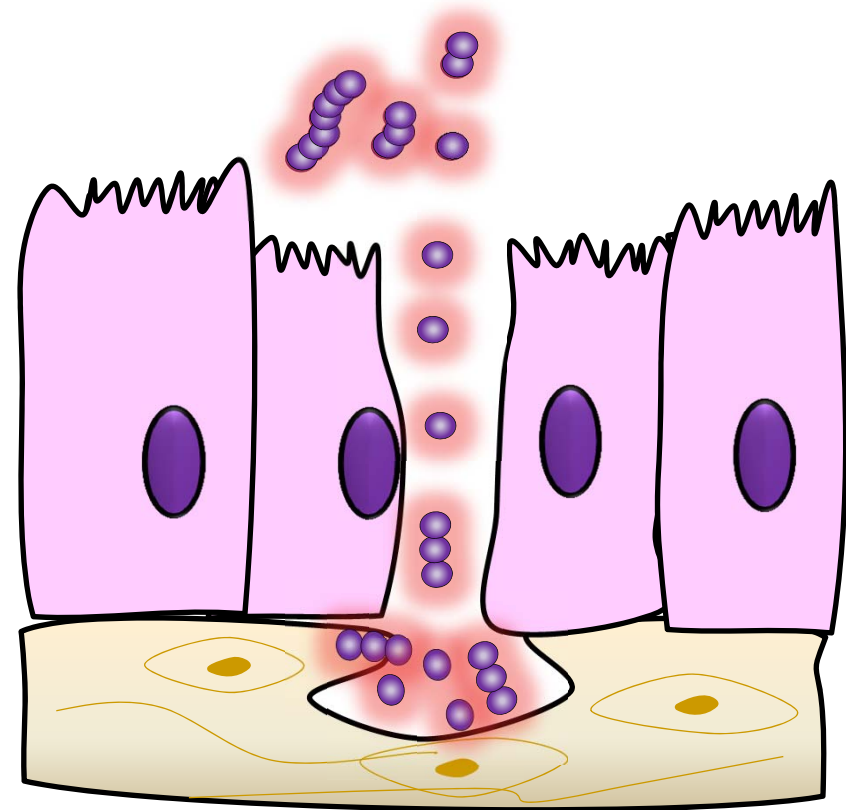
Ialuronidasi: disgrega le cellule scindendo l'acido ialuronico

Collagenasi: scinde il connettivo

Neuraminidasi (*Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*) degrada l'acido sialico e disgrega gli enterociti

Elastasi: distrugge l'elastina, componente importante del tessuto polmonare

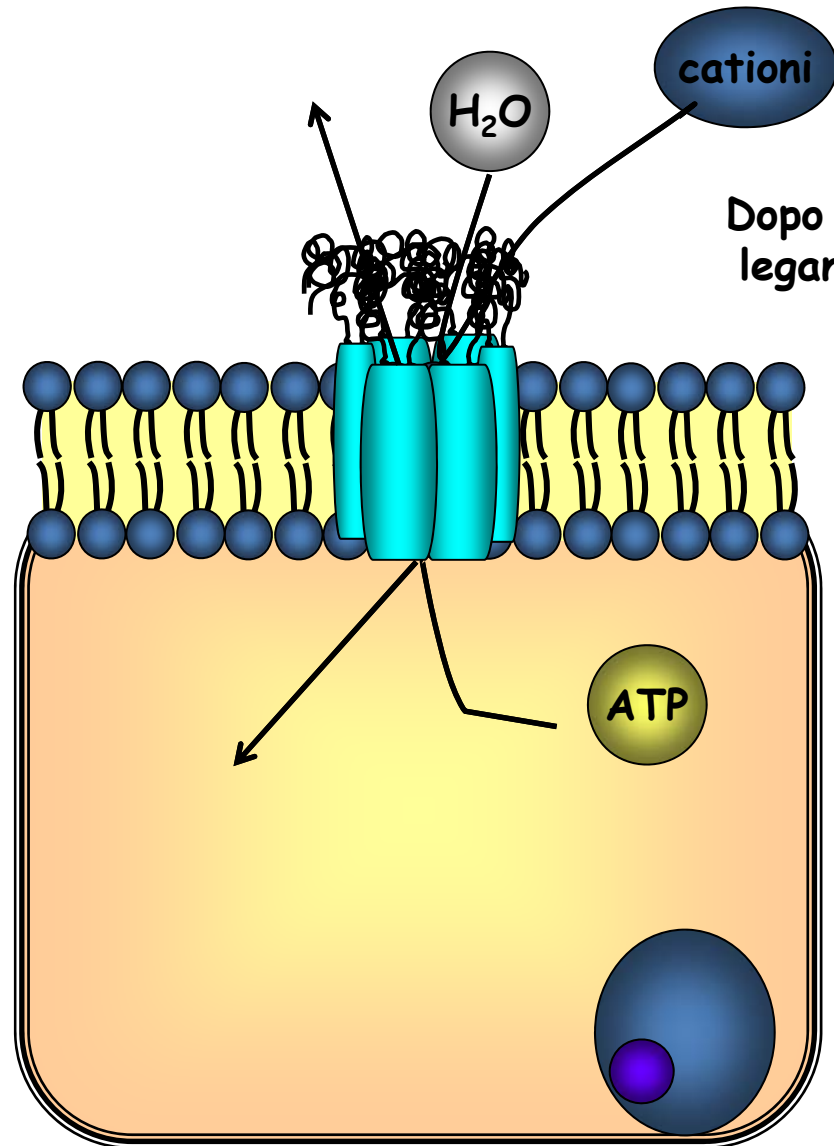
Streptochinasi e stafilochinasi, Convertono il plasminogeno in plasmina che digerisce la fibrina, previene i coaguli e permette una rapida diffusione dei patogeni



Proteasi alcalina:
danneggia i tessuti

Le tossine citolitiche (PTF- pore-forming protein toxins)
sono prodotte da Monodermi e Didermi

La caratteristica comune è la capacità di provocare la formazione di
pori idrofili nella membrana citoplasmatica delle cellule eucariotiche



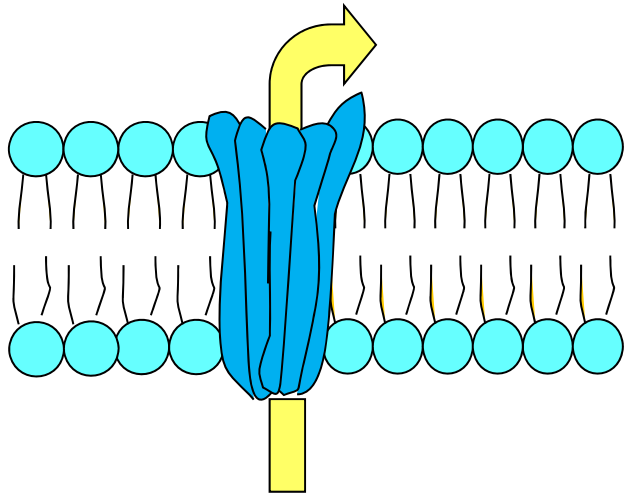
Dopo il taglio della sequenza segnale, i monomeri
legano il colesterolo e si assemblano in un largo
poro transmembrana (circa 30 nm)

Si crea uno squilibrio
osmotico e la cellula lisa

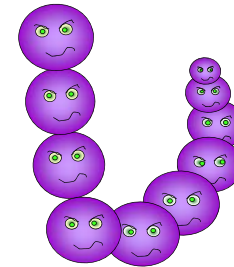
A questo gruppo appartengono le
leucocidine che uccidono i globuli
bianchi formando pori nella membrana

La caratteristica comune è una sequenza conservata all'estremità C-terminale (ECTGLAWEWWR) importante per l'attività citolitica

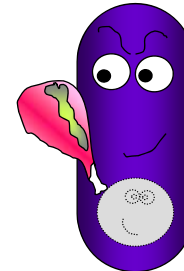
esempi di questa famiglia sono:



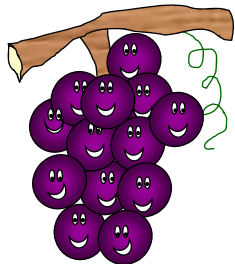
La streptolisina O di *Streptococcus pyogenes*



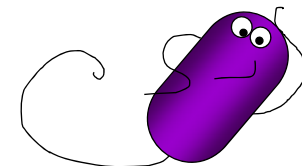
la perfringolisina O (*Clostridium perfringens*)



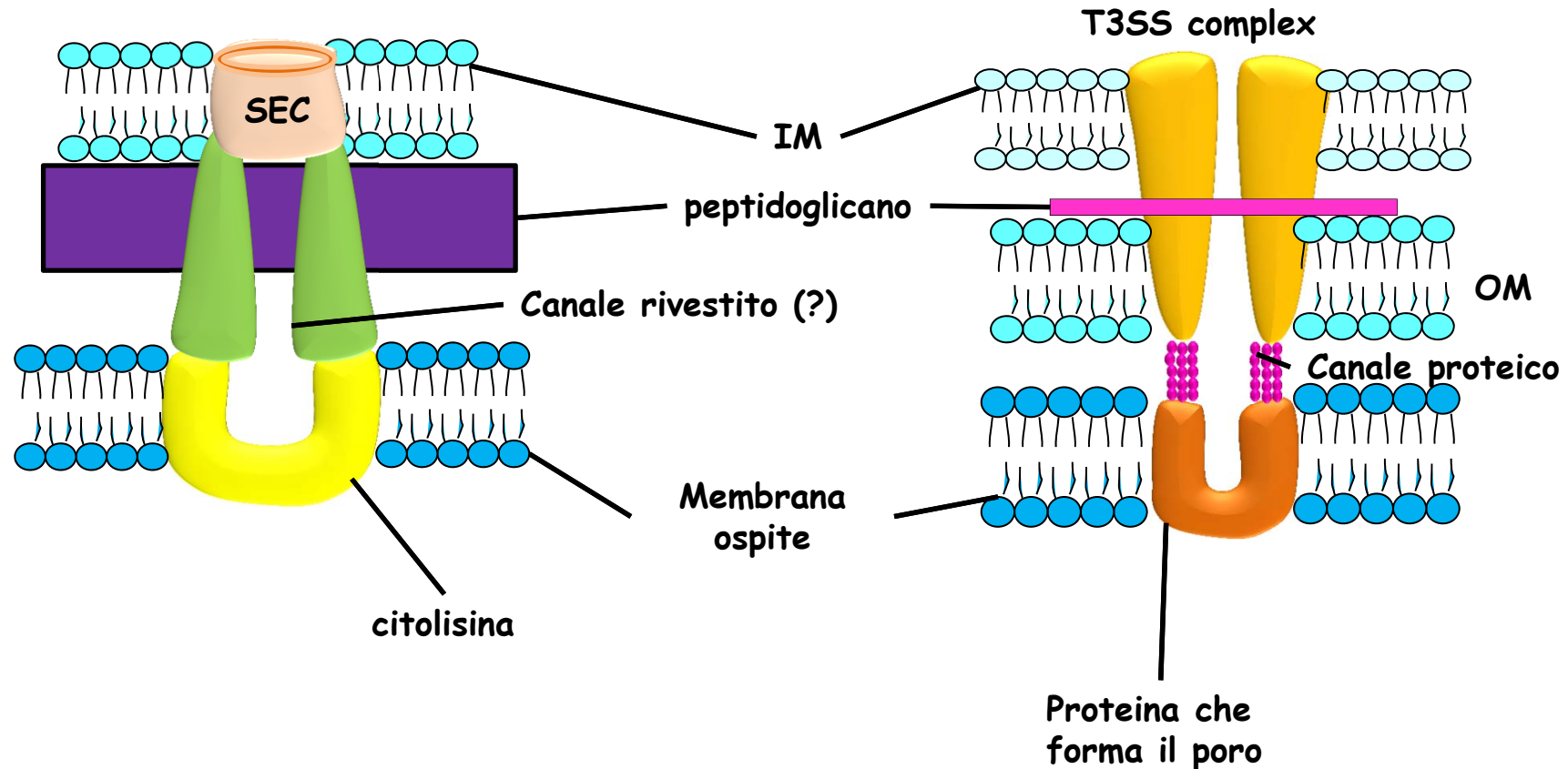
L'a-tossina di *Staphylococcus aureus*



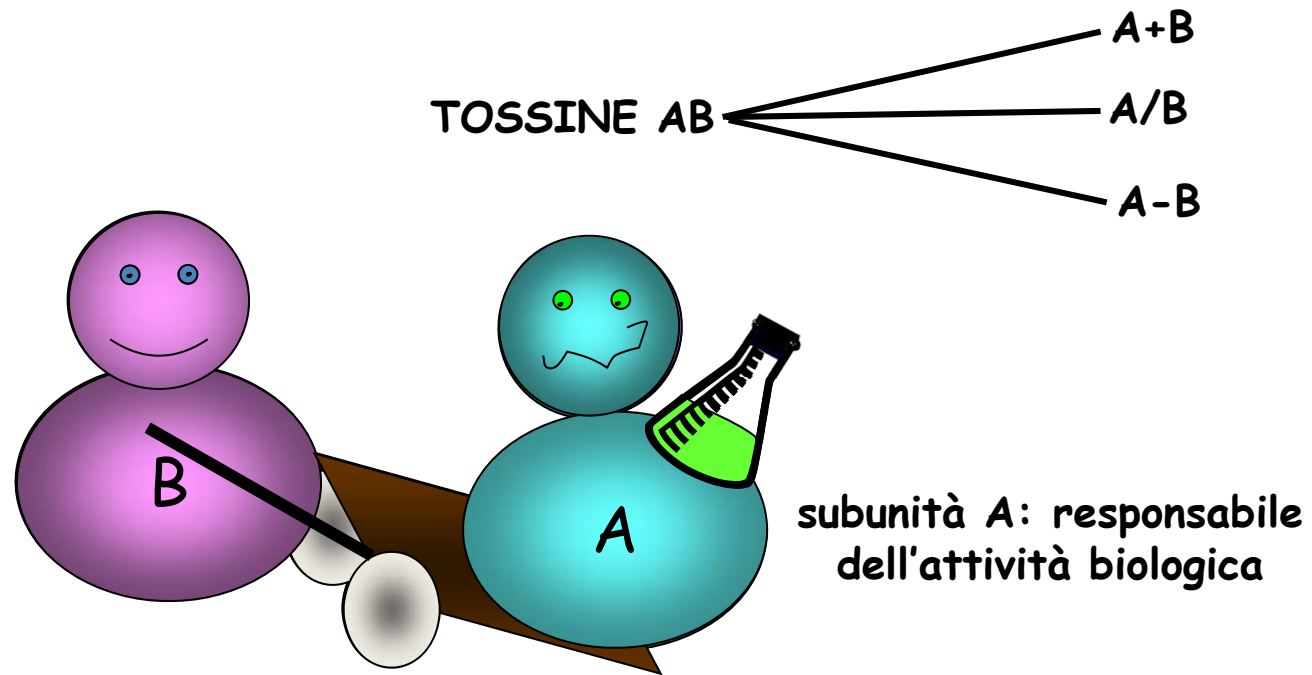
la listeriolisina O (*Listeria monocytogenes*)



E' stato ipotizzato per queste citolisine, un ruolo di secrezione diretta simile a quello dei T3SS dei didermi



Nella traslocazione mediata dalla citolisina, gli effettori sono secreti attraverso la via di secrezione generale (SEC), in un canale ancora non identificato, che rilascia l'effettore al poro formato dalla citolisina, traslocandolo al citoplasma dell'ospite

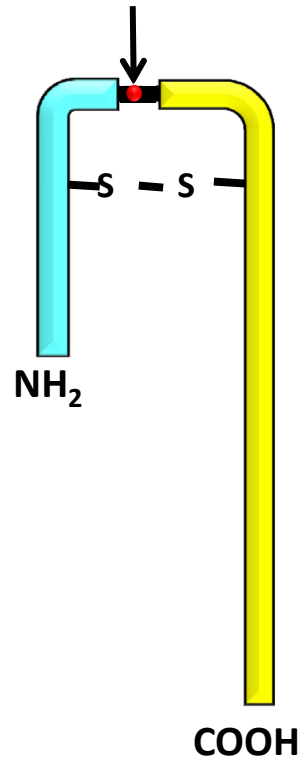


subunità B: lega il recettore,
e trasporta "A" nella cellula

La componente biologica della tossina resta inattiva
finchè non si libera dalla tossina nativa

TIPO A/B

Sito di taglio

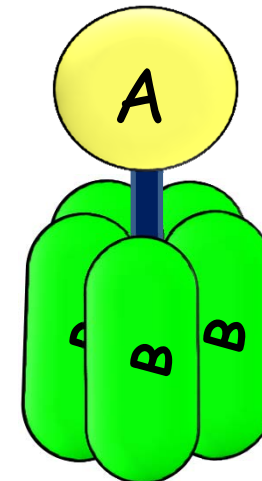


Subunità sintetizzate
insieme nello stesso
peptide

A+B : le subunità sono sintetizzate separatamente e si associano a livello del bersaglio



A-B : le subunità sono sintetizzate separatamente ma si associano prima del legame al loro bersaglio

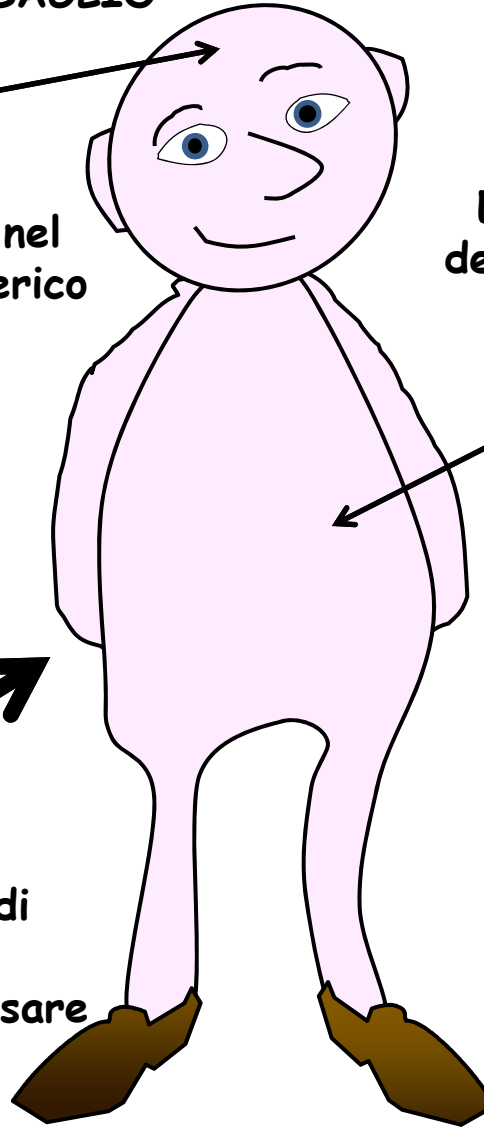


LE TOSSINE DI TIPO II SONO ANCHE DIVISE
A SECONDA DEL BERSAGLIO

TOSSINE NEUROTROPE, le cui
cellule bersaglio sono localizzate nel
sistema nervoso centrale o periferico

ENTEROTOSSINE, attive a livello
delle cellule della mucosa intestinale

TOSSINE PANTROPE, in grado di
danneggiare qualsiasi cellula in
possessione di recettori idonei a fissare
la tossina

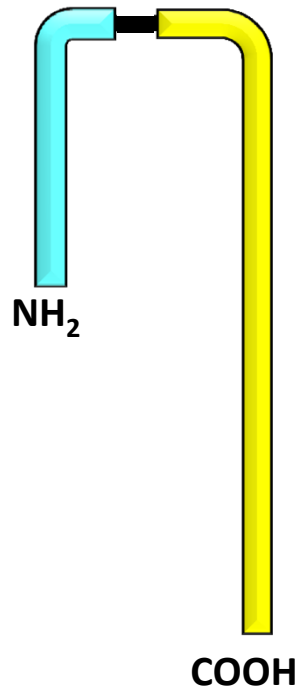


TOSSINE NEUROTROPE

Tossine botulinica

Tossina tetanica

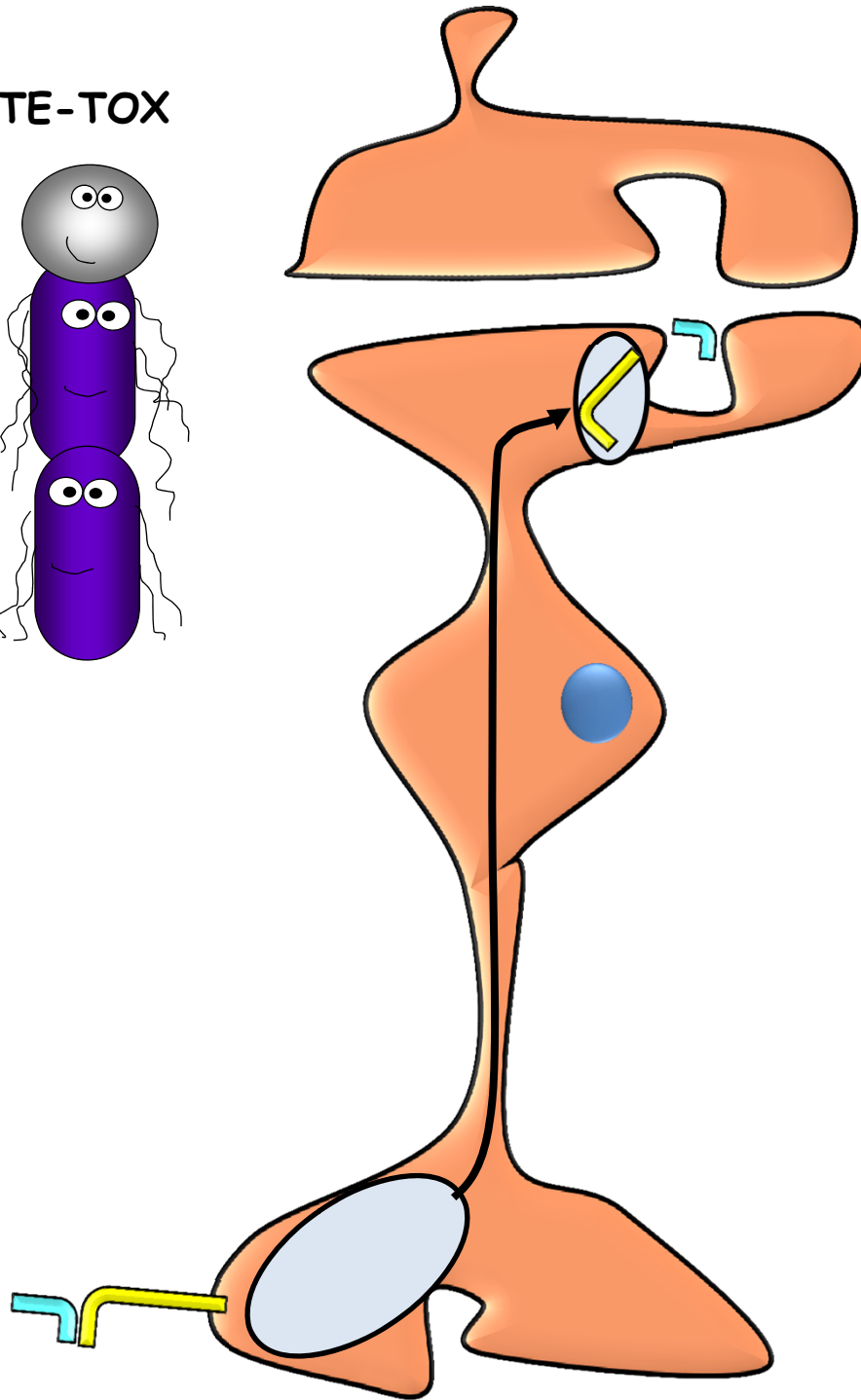
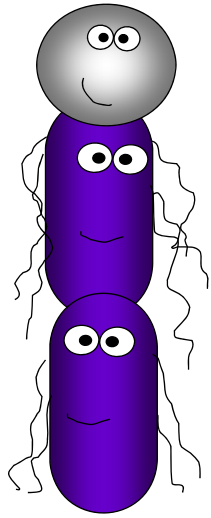
Interferiscono con i meccanismi di trasmissione dell'impulso nervoso e provocano la morte in seguito all'instaurarsi di una paralisi flaccida (tossina botulinica) o spastica (tetano)



Entrambe di tipo A/B, sono proteasi con sito attivo a Zn

Attivate dal taglio di una proteasi; le due subunità (A=leggera e B= pesante) sono unite da un ponte S-S

TE-TOX



la subunita' B, C-ter si lega alle terminazioni dei neuroni motori

Risale verso il midollo spinale e il tronco cerebrale

Raggiunge le sinapsi inibitorie che rilasciano acido γ -butirrico e glicina

la sub.A si libera e scinde le proteine SNARE

essenziali per il rilascio dei mediatori



**BLOCCO DEI NEURONI INIBITORI:
CONTRAZIONE SPASTICA**

L'acetilcolina trasmette l'impulso nervoso a un muscolo, determinandone la contrazione

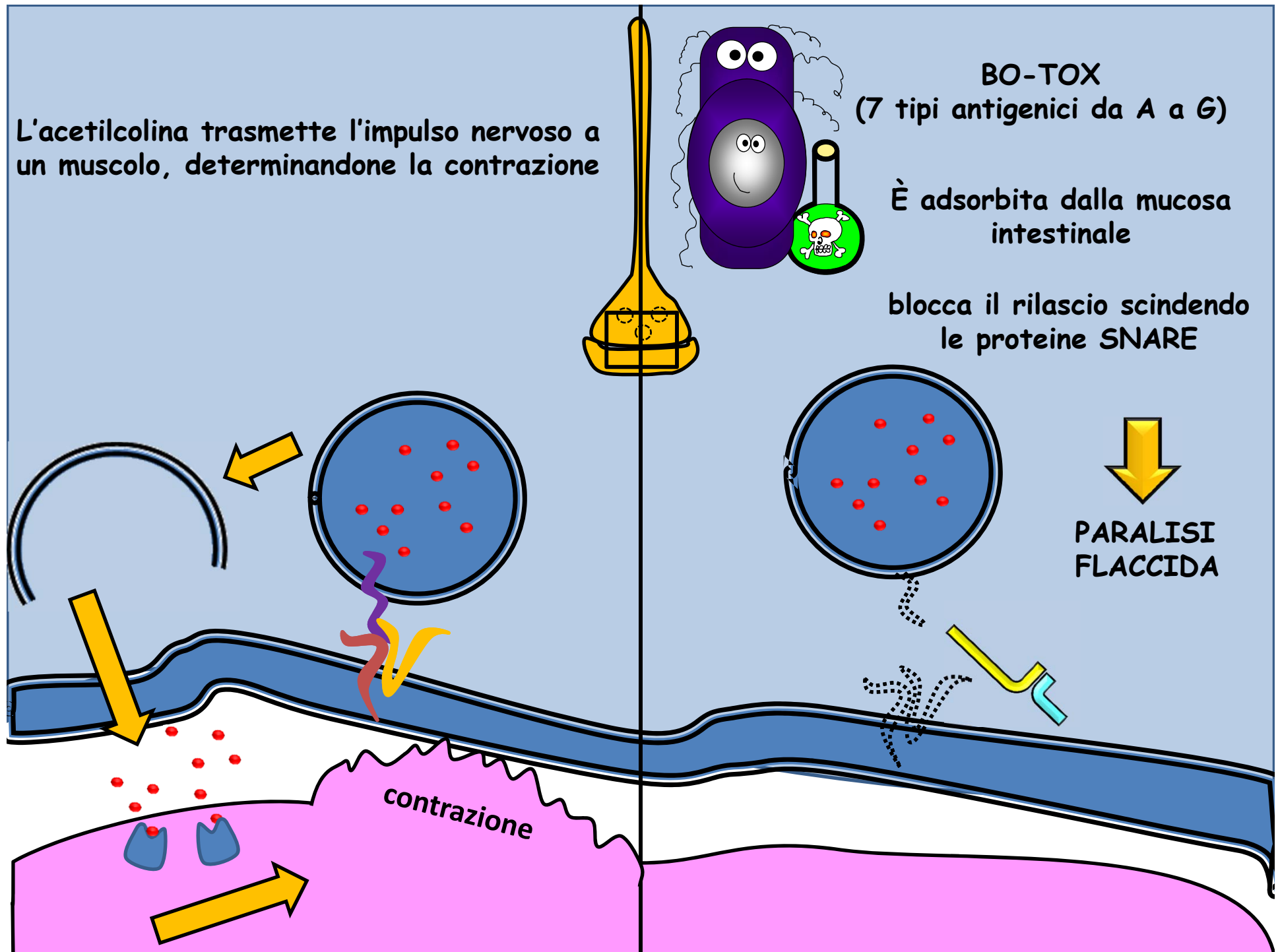
BO-TOX
(7 tipi antigenici da A a G)

È adsorbita dalla mucosa intestinale

blocca il rilascio scindendo le proteine SNARE

PARALISI
FLACCIDA

contrazione



ENTEROTOSSINE

Tossine che causano danno all'apparato gastro-enterico (vomito e diarrea)

ingerite con cibi in cui si sia replicato il patogeno (INTOSSICAZIONI)

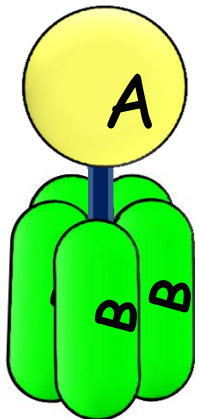
prodotte da batteri che si replicano nell'intestino (TOSSINFEZIONI)

Le subunità B si legano al recettore GM1

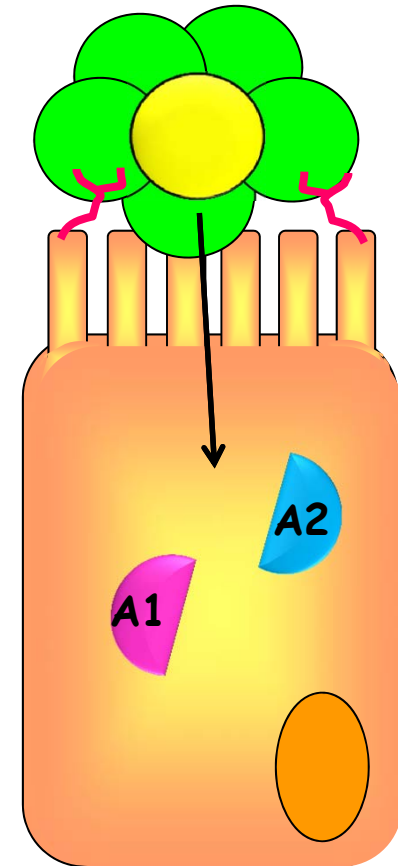
internalizzano la subunità A

La tossina CTX di *V. cholerae* è il modello delle enterotossine

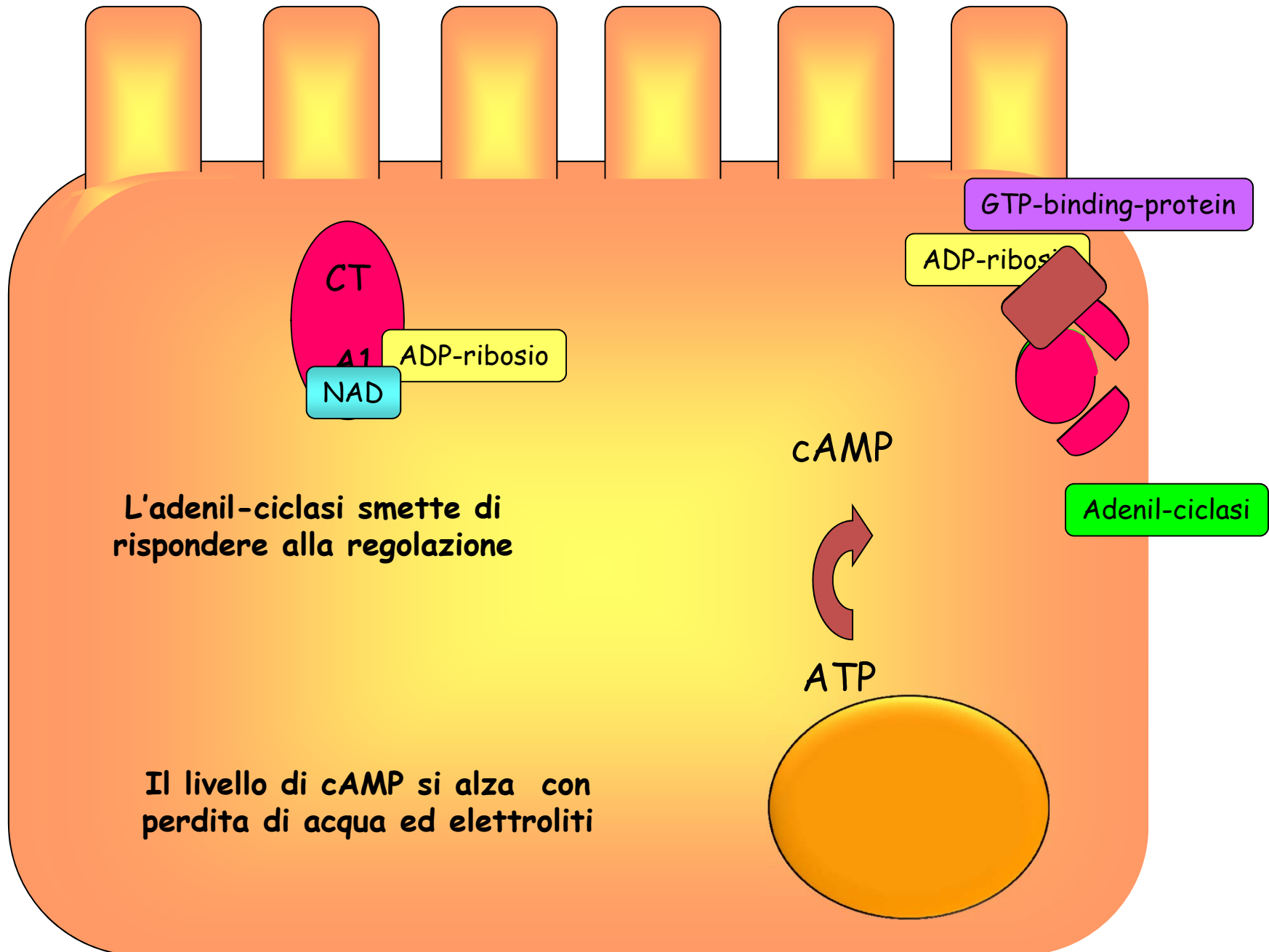
Ha una struttura A-5B, con 5 subunità di legame identiche



Il glutathione intracellulare riduce "A" nei frammenti A1 ed A2



A1 trasferisce ADP-ribosio dall'NAD ad una GTP-binding protein (GS) legata all'adenil-ciclastasi dell'enterocita



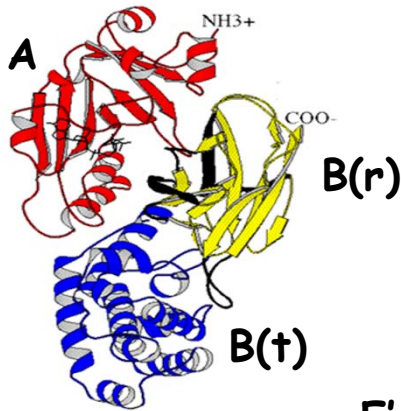
TOSSINA PANTROPA

La tossina difterica è una tossina pantropa di tipo A/B che inibisce la sintesi proteica cellulare

La sua dose letale è di 0,1 µg/Kg

si attiva quando viene proteolizzata e si divide in due frammenti uniti da un ponte disolfuro

A: (21 kDa) DOMINIO CATALITICO

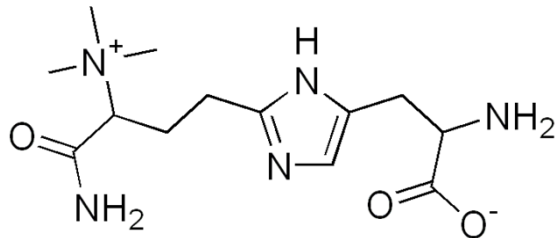


B: DOMINIO DI TRASPORTO



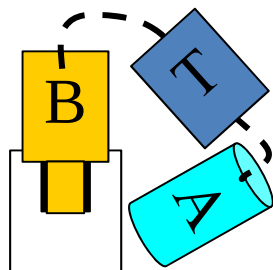
B(t) IDROFOBO,
traslocazione attraverso la
membrana dell'endosoma

E' una NAD⁺-diftamide ADP-ribosiltransferasi

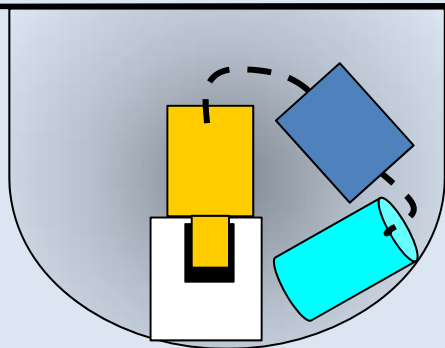


La diftamide è un'istidina modificata che si trova in corrispondenza di H175 nel fattore EF2 dei mammiferi

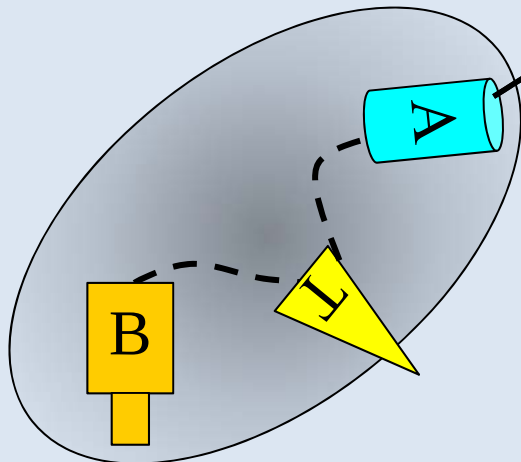
La tossina si lega
al recettore



Si internalizza in un
vacuolo ricoperto di clatrina



la frazione attiva si
libera nel citoplasma



L' endosoma si acidifica, il dominio T cambia
conformazione e si insinua nella membrana

ADP-ribosila il
fattore EF2 e uccide la cellula

